

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



INVESTIGAÇÃO RETROSPETIVA DOS CASOS DE INFEÇÕES MULTIRRESISTENTES EM
CÃES E GATOS INTERNADOS NA UNIDADE DE ISOLAMENTO E CONTENÇÃO
BIOLÓGICA DO HOSPITAL ESCOLAR

ANA PATRÍCIA BRÁS PINHÃO

ORIENTADOR:
Doutor Virgílio da Silva Almeida

2021

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



INVESTIGAÇÃO RETROSPETIVA DOS CASOS DE INFEÇÕES MULTIRRESISTENTES EM
CÃES E GATOS INTERNADOS NA UNIDADE DE ISOLAMENTO E CONTENÇÃO
BIOLÓGICA DO HOSPITAL ESCOLAR

ANA PATRÍCIA BRÁS PINHÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI
PRESIDENTE:
Doutora Maria Constança Matias Ferreira
Pomba

ORIENTADOR:
Doutor Virgílio da Silva Almeida

VOGAIS:
Doutora Solange Judite Roque Coelho
Alves Gil Neves
Doutor Virgílio da Silva Almeida

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Ana Patrícia Brás Pinhão

Título da Tese ou
Dissertação: Investigação retrospectiva dos casos de infeções multirresistentes em cães e gatos internados na Unidade de Isolamento e Contenção Biológica do Hospital Escolar

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2021

Designação do curso
de Mestrado ou de
Doutoramento: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- ☐ Clínica ☐ Produção Animal e Segurança Alimentar
☐ Morfologia e Função ☒ Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- ☒ Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- ☐ Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de ☐ 6 meses, ☐ 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 26 de julho de 2021

Assinatura: Ana Pinhão

Agradecimentos

Ao meu orientador, o Professor Doutor Virgílio da Silva Almeida por todo o apoio, disponibilidade e conhecimento demonstrado.

À Professora Doutora Solange Gil, coordenadora da Unidade de Isolamento, pela ajuda dispensada e simpatia.

A toda a equipa médica do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, aos enfermeiros, auxiliares e aos colegas estagiários que me acompanharam ao longo destes meses. Um obrigado especial à Dra. Inês Machado pela sua disponibilidade, simpatia e pela partilha da base de dados.

À Isabela, Sara e Jessica, porque sem o vosso apoio este percurso teria sido tão mais complicado. Obrigada pela vossa amizade.

À Sara e à Inês, as minhas companheiras das manhãs na faculdade. Obrigada pelas conversas e pelos pequenos-almoços antes das aulas começarem. À Mafalda, pela simpatia e por estar sempre pronta a ajudar.

À Carlita, por acreditar sempre em mim.

Aos meus pais, irmão, avós, primos e tios. Obrigada por estarem sempre presentes e pelo amor incondicional que sempre me deram.

A todas as pessoas queridas que tanto me apoiam e que mesmo sem citar nomes, sabem o quanto são importantes para mim.

Investigação retrospectiva dos casos de infeções multirresistentes em cães e gatos internados na Unidade de Isolamento e Contenção Biológica do Hospital Escolar

Resumo

A problemática das infeções bacterianas multirresistentes exige uma abordagem pluridisciplinar, reconhecedora da interligação e interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental - One Health. Até recentemente, o papel dos animais de companhia nesta temática foi negligenciado, com as investigações centradas na relação entre a saúde humana e os animais de produção, via cadeia alimentar. A crescente notificação de cães e gatos infetados com bactérias multirresistentes, associados ao uso abusivo de antibióticos, demonstra a necessidade de investigação deste problema complexo nos animais de companhia.

O presente estudo retrospectivo teve como objetivo identificar e caracterizar a população de animais de companhia hospitalizados numa Unidade de Isolamento e Contenção Biológica com infeções bacterianas multirresistentes, de outubro de 2013 a outubro de 2020. Foram investigados 30 animais, dos quais 17 (56,7%) canídeos e 13 (43,3%) felídeos. As medianas de idades registadas: 11 anos nos cães; 10 anos nos gatos; refletem a predominância de animais seniores/geriátricos em ambas as espécies. No momento da hospitalização, todos os animais apresentavam doenças concomitantes. 94,1% dos canídeos e 76,9% dos felídeos tinham feito antibióterapias no ano anterior à recolha das amostras biológicas, sendo os antibióticos mais prescritos a amoxicilina/ácido clavulânico (40,0% nos cães e 55,6% nos gatos) e as fluoroquinolonas (38,0% nos cães e 22,6% nos gatos). 52,9% dos canídeos e 84,6% dos felídeos estiveram internados, pelo menos uma vez, nos seis meses anteriores à deteção de MDR. A família *Enterobacteriaceae* foi a mais frequente em ambas as espécies animais (80,0%). A multirresistência estava associada à produção de ESBL em 25,0% (5/20) das bactérias nos cães e em 13,3% (2/15) das bactérias nos gatos.

Estes resultados reforçam que os cães e os gatos podem ser portadores de bactérias multirresistentes, representando um potencial risco de Saúde Pública. A relação cada vez mais próxima entre os detentores e os seus animais de companhia cria oportunidades de transmissão interespecies de bactérias resistentes, aliado ao facto destes animais também poderem funcionar como reservatório de genes de resistência. Por esta razão, os animais de companhia são um pilar relevante do paradigma “One Health/Uma Só Saúde” e devem ser incluídos em todos os planos de mitigação da resistência antimicrobiana.

Palavras-chave: Animais de companhia, Resistência antimicrobiana, Infeções bacterianas multirresistentes, Saúde Pública, One Health

Retrospective study of multidrug-resistant bacterial infections in dogs and cats admitted to the Biological Containment and Isolation Unit of the Teaching Hospital

Abstract

The problematic of multi-resistant bacterial infections requires a multidisciplinary approach, recognizing the interconnection and interdependence between human, animal and environmental health - One Health. Until recently, the role of companion animals in this theme was neglected, with researchers focused on the relationship between human health and farm animals, via the food chain. The increasing notification of dogs and cats infected with multi-resistant bacteria, associated with the overuse of antibiotics, demonstrates the need for research in companion animals in this complex problem.

This retrospective study aimed to identify and characterize the population of companion animals hospitalized in an Isolation and Biological Containment Unit with multi-resistant bacterial infections, from October 2013 to October 2020. Thirty animals were investigated, of which 17 (56.7 %) canids and 13 (43.3%) felids. Median ages recorded: 11 years in dogs, 10 years in cats, reflect the predominance of senior/geriatric animals in both species. At the time of hospitalization, all animals had concomitant illnesses. 94.1% of the dogs and 76.9% of the felids had undergone antibiotic therapy in the year prior to the collection of biological samples, with amoxicillin/clavulanic acid being the most prescribed antibiotics (40.0% in dogs and 55.6% in cats) and fluoroquinolones (38.0% in dogs and 22.6% in cats). 52.9% of canids and 84.6% of felids were hospitalized at least once in the six months prior to detection of MDR. The *Enterobacteriaceae* family was the most frequent in both animal species (80.0%). Multidrug resistance was associated with ESBL production in 25.0% (5/20) of bacteria in dogs and in 13.3% (2/15) of bacteria in cats.

These results reinforce that dogs and cats can carry multi-resistant bacteria, posing a potential public health risk. The closer and closer relationship between owners and their companion animals creates opportunities for interspecies transmission of resistant bacteria, allied to the fact that these animals can be reservoirs of resistance genes. For this reason, companion animals are a relevant pillar of the “One Health/One Health” paradigm and should be included in all antimicrobial resistance mitigation plans.

Keyword: Companion animals, Antimicrobial resistance, Multi-resistant bacterial infections, Public Health, One Health

Índice geral

Agradecimentos	iii
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
Lista de abreviaturas e siglas	ix
Relatório das atividades desenvolvidas no Estágio Curricular	1
Capítulo I- Introdução	4
1. Animais de companhia e Uma Só Saúde (“One Health”).....	5
2. O papel dos animais de companhia na resistência antimicrobiana	6
3. Categorização de antimicrobianos de importância crítica	8
4. Bactérias multirresistentes nos animais de companhia.....	10
5. Resistência intrínseca e adquirida	13
6. β -lactâmicos	15
7. Mecanismos de resistência aos antibióticos β -lactâmicos	15
8. β -lactamases	16
9. β -lactamases de espectro alargado.....	17
CAPÍTULO II – Investigação retrospectiva dos casos de infeções multirresistentes em cães e gatos internados na Unidade de Isolamento e Contenção Biológica do Hospital Escolar	20
1. Tipo de estudo e objetivos.....	20
2. Materiais e métodos	20
2.1 Critérios de inclusão e tamanho da amostra	20
2.2 Fontes de dados, processamento de dados e análise estatística.....	20
2.3 Métodos de diagnóstico laboratorial.....	21
2.4 Descrição das variáveis investigadas.....	21
3. Resultados	25
3.1 Evolução anual dos pacientes internados na UICB com MDR	25
3.2 Caracterização da população de animais com MDR internados na UICB	25
3.2.1 Género	25
3.2.2 Idade	26
3.2.3 Raça.....	26
3.2.4 Doenças concomitantes	27
3.2.5 Historial de internamento e de consumo de antibióticos	27
3.2.6 Antibióticos prescritos.....	28
3.2.7 Caracterização das amostras biológicas recolhidas	29
3.2.8 Bactérias multirresistentes isoladas.....	30
3.2.9 Suscetibilidade aos antibióticos	33
4. Discussão.....	39

4.1. Multiplicidade de metodologias de deteção de MDR em Medicina Veterinária.....	39
4.2. Limitação do critério de seleção dos casos MDR.....	40
4.3. Caracterização da população de estudo	41
4.3.1. Espécie, género e estado reprodutivo	41
4.3.2. Idade, presença de doenças concomitantes e tipo de amostra biológica.....	41
4.3.3. Antibióticos prescritos.....	42
4.3.4. Consumo de antibióticos e internamentos prévios.....	43
4.3.5 Bactérias multirresistentes isoladas.....	44
4.3.6 <i>Enterobacteriaceae</i>	45
4.3.7 <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> e MRSP	46
4.3.8 <i>Enterococcus</i> spp.....	47
5. Conclusão	49
6. Bibliografia	51

Índice de gráficos

Gráfico 1- Evolução anual dos casos de MDR	25
Gráfico 3- Distribuição etária dos felídeos (N=13)	26
Gráfico 2- Distribuição etária dos canídeos (N=17)	26
Gráfico 4- Frequência de doenças concomitantes nos canídeos e felídeos.....	27
Gráfico 5- Antibióticos prescritos nos canídeos e felídeos nos 12 meses prévios a deteção de MDR.....	29
Gráfico 6- Tipo de amostras biológicas recolhidas nos canídeos e felídeos	30
Gráfico 7- Bactérias isoladas nos canídeos (N=17)	30
Gráfico 8- Bactérias isoladas nos felídeos (N=13)	31
Gráfico 9- Bactérias isoladas nos canídeos por tipo de infeção (N=20)	32
Gráfico 10- Bactérias isoladas nos felídeos por tipo de infeção (N=15)	32

Índice de tabelas

Tabela 1- Carga horária por serviço do Hospital Escolar durante o Estágio Curricular	1
Tabela 2- Historial clínico dos canídeos e felídeos	28
Tabela 3- Suscetibilidade dos isolados <i>Escherichia coli</i> aos antimicrobianos nos canídeos (N=12) e nos felídeos (N=3)	34
Tabela 4- Suscetibilidade dos isolados <i>Klebsiella</i> spp. aos antimicrobianos nos canídeos (N=2)	34
Tabela 5- Suscetibilidade dos isolados <i>Klebsiella pneumoniae</i> aos antimicrobianos nos felídeos (N=4).....	35
Tabela 6- Suscetibilidade dos isolados <i>Proteus</i> spp. aos antimicrobianos nos canídeos (nº1 e nº2) e felídeos (A, B, C) (N=5)	35
Tabela 7- Suscetibilidade dos isolados <i>Enterobacter cloacae</i> nos felídeos aos antimicrobianos (N=2)	36
Tabela 8- Suscetibilidade dos isolados <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> aos antimicrobianos nos canídeos (N=2)	37
Tabela 9- Suscetibilidade dos isolados MRSP aos antimicrobianos nos canídeos (1 e 2) e no felídeo (A) (N=3).....	37
Tabela 10- Suscetibilidade dos isolados <i>Enterococcus</i> spp. aos antimicrobianos nos felídeos (N=2)	38

Lista de abreviaturas e siglas

ADN- Ácido desoxirribonucleico

AMC- Amoxicilina-ácido clavulânico

CAMV- Centros de Atendimento Médico-Veterinário

CIA- Antimicrobianos de importância crítica

CIISA- Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

CMI- Concentração mínima inibitória

DRC- Doença renal crónica

EDTA- Ácido etilenodiamino tetra-acético

EMA- Agência Europeia de Medicamentos

ESBL- *Extended-spectrum β -lactamase* (β -lactamase de espectro alargado)

FAO- Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura

HE-Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

HPCIA- Antimicrobianos de importância crítica de elevada prioridade

IPC- Programas de controlo e prevenção de doenças infecciosas

ITU- Infecção do trato urinário

MDR- Multirresistente a antibióticos

ME- Membrana externa das bactérias Gram-negativas

MRSA- *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina)

MRSP- *Methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius* (*Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina)

OIE-Organização Mundial de Saúde Animal

SRD- Sem raça definida

TMS- Trimetoprima-Sulfametoxazol

TSA- Teste de Sensibilidade aos Antibióticos

UICB- Unidade de Isolamento e Contenção Biológica do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

WHO- Organização Mundial de Saúde

WSAVA- *World Small Animal Veterinary Association*

Relatório das atividades desenvolvidas no Estágio Curricular

O Estágio Curricular foi realizado no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária (HE) da Universidade de Lisboa. É um hospital que tem por finalidade promover a formação dos estudantes na vertente clínica, e no caso específico dos animais de companhia, presta serviços nas áreas de medicina interna e geral, imagiologia, cirurgia, oncologia, dermatologia, oftalmologia, ortopedia, neurologia, cardiologia, nutrição, comportamento animal e doenças infectocontagiosas.

O Estágio Curricular teve a duração de 4 meses, totalizando 779 horas. Foi iniciado a 2 de março de 2020, tendo sido interrompido após duas semanas devido ao confinamento imposto pelo governo para conter a propagação da COVID-19. Reiniciou-se a 18 de maio e terminou a 22 de agosto de 2020. Durante este período, a Estagiária foi escalonada em regime de rotatividade pelos diversos serviços do HE em turnos de 8 horas (Tabela 1).

Tabela 1- Carga horária por serviço do Hospital Escolar durante o Estágio Curricular

	Serviço	Tempo Despendido
<i>Imagiologia</i>	Medicina Geral	143 horas
	Cirurgia	151 horas
	Ecografia	48 horas
	Radiologia	46 horas
<i>Especialidades</i>	Medicina Interna	83 horas
	Dermatologia	42 horas
	Oftalmologia	72 horas
	Oncologia	45 horas
	UICB	149 horas
	Total	779 horas

UICB -Unidade de Isolamento e Contenção Biológica

1.1 Medicina Geral

No Serviço de Medicina Geral assisti a consultas e participei na elaboração da anamnese, na realização do exame físico dos pacientes, na elaboração da lista de diagnósticos diferenciais e na seleção dos exames complementares de diagnóstico apropriados a cada caso clínico. Procedi à execução de diversos procedimentos, tais como administração de fármacos injetáveis, venopunção para colocação de cateteres, colheita de sangue, execução de pensos, limpeza de feridas e à observação de cistocentese e drenagem/colheita de fluidos por toracocentese/abdominocentese.

1.2 Cirurgia

No Serviço de Cirurgia, desempenhei diversas funções, como receção dos animais para a sala de preparação pré-cirúrgica, realização do exame físico, colocação de cateteres intravenosos, preparação e administração da pré-medicação e dos fármacos de indução anestésica, intubação endotraqueal e preparação da zona cirúrgica (tricotomia, limpeza e assepsia). Observei e colaborei no papel de circulante, anestesista e ajudante de cirurgião em diversos tipos de cirurgias, destacando destarizações, orquiectomias e ovariectomias eletivas, mastectomias, laparotomias exploratórias, remoção de corpos estranhos lineares por gastrotomia e/ou enterotomia, cistotomia para remoção de cálculos vesicais, nodulectomias cutâneas e cirurgias ortopédicas, como amputação de membros. Também fiz a monitorização e o manejo pós-cirúrgico dos animais.

1.3 Imagiologia

No Serviço de Radiologia, tive a oportunidade de auxiliar na contenção, na administração de fármacos, no posicionamento e monitorização anestésica dos animais sujeitos à realização de Raio-X e TAC. Também participei na interpretação dos exames e na elaboração dos relatórios dos mesmos.

No Serviço de Ecografia assisti e auxiliei diversas ecografias abdominais com realização de cistocenteses, de punções aspirativas por agulha fina (PAAF) de fígado e colheitas de bÍlis por colecistocentese percutânea ecoguiada. Também tive oportunidade de presenciar em menor número ecografias torácicas, em que foi possível observar a punção de massas torácicas e colheita de derrames pleurais e do pericárdio.

1.4 Medicina Interna

No Serviço de Medicina Interna, assisti e ajudei nas consultas - na sua maioria referenciadas -, na elaboração das listas de diagnósticos diferenciais, dos exames complementares de diagnóstico e da terapêutica a administrar, bem como na realização dos relatórios. Também assisti à execução de rinoscopias e de endoscopias altas.

1.5 Dermatologia

No Serviço de Dermatologia, colaborei na realização de punções aspirativas de agulha fina de lesões cutâneas e de biópsias. Fiz tricogramas, citologias cutâneas e auriculares com posterior coloração e observação ao microscópio ótico.

1.6 Oftalmologia

No Serviço de Oftalmologia, participei em diversas consultas nas quais fiz o exame oftálmico completo com recurso ao teste de Schirmer, teste de fluoresceína, tonómetro digital (Tono-pen®), lâmpada de fenda e oftalmoscópio. Assisti ainda a algumas cirurgias como enucleações, cirurgias de resolução de cataratas uni e bilaterais, e cirurgias para resolução de entrópeon.

1.7 Oncologia

No Serviço de Oncologia, colhi amostras biológicas para análises de controlo e preparei e administrei fármacos antineoplásicos. Assisti a consultas de referência e de seguimento.

1.8 Unidade de Isolamento e Contenção Biológica

A Unidade de Isolamento e Contenção Biológica (UICB) do HE é um serviço onde são internados animais com doença infetocontagiosa (DIC) confirmada ou com suspeita clínica de tal, mas a aguardar diagnóstico. Na UICB é necessário usar permanentemente equipamentos de proteção individual (EPI) como luvas, máscara facial, bata descartável, touca descartável e proteção de calçado nas salas destinadas ao isolamento dos animais. Durante as últimas 3 semanas do meu Estágio Curricular estaguei na UICB, sob a supervisão da Dr^a Inês Machado. Desempenhei as seguintes tarefas: monitorização de pacientes; registo de dados no sistema informático; preparação e administração de medicação; acompanhamento e execução de procedimentos clínicos (colheita de amostras de sangue, saliva ou fezes, colocação de cateteres endovenosos, colocação de sondas nasoesofágicas) e de exames complementares de diagnóstico como ecografia abdominal e radiografia. Acompanhei consultas de seguimento, realizadas uma semana após a alta clínica dos animais, e as consultas de vacinação. Contactei com múltiplos casos clínicos de diversas doenças infecciosas, destacando a panleucopénia, parvovirose canina, calicivírus sistémico, pneumonia por suspeita de micoplasma, leucemia felina (FeLV) e imunodeficiência felina (FIV) em diferentes estádios, com ou sem comorbidades associadas. Além das tarefas clínicas, na UICB os estagiários são também responsáveis pela desinfeção das superfícies e do material, e da reposição do material descartável.

Capítulo I- Introdução

Atualmente, uma das maiores ameaças para a Saúde Pública é o crescimento e a disseminação global de estirpes bacterianas multirresistentes. A magnitude deste problema pode ser ilustrada pelas graves consequências clínicas e económicas constatadas até ao momento e expectáveis num futuro próximo, caso não sejam tomadas as medidas necessárias. Anualmente, 700.000 pessoas morrem devido a estas infeções, com previsões alarmantes de se poder atingir um cenário de 10 milhões de mortes por ano em 2050, que poderá conduzir a uma redução de 2,0% a 3,5% do Produto Interno Bruto mundial (Da Costa et al., 2013; Hu et al., 2017; McLeod et al., 2019; Pacios et al., 2020; Robinson et al., 2016; Suay-García et al., 2019). Outro fator de grande preocupação é o ritmo de desenvolvimento, produção e comercialização de novos antimicrobianos. Entre 1940 e 1962, mais de 20 novas classes de antibióticos foram comercializadas. Desde então, só duas novas classes de antibióticos chegaram ao mercado, sendo que os restantes antibióticos são análogos de classes já existentes. Esta situação parece tender a agravar-se no futuro, uma vez que este mercado deixou de ser apelativo para as grandes empresas farmacêuticas pois desenvolver um novo antibiótico demora pelo menos uma década e implica um investimento muito grande que dificilmente terá retorno financeiro, visto que o produto final será considerado um “antibiótico de última linha” e como tal, aplicado somente em casos específicos (Coates et al., 2011; Wenzel, 2004).

Apesar da resistência antimicrobiana ser uma resposta evolutiva inevitável, o uso indiscriminado de antibióticos impôs uma forte pressão seletiva nas bactérias e é apontado como um dos principais responsáveis pelas elevadas taxas de resistências existentes (Christaki et al., 2020; French, 2005). Até recentemente, o papel dos animais de companhia nesta problemática foi negligenciado, com as investigações centradas essencialmente nas populações humanas e nos animais de produção, destacando as zoonoses transmitidas pela cadeia alimentar. O recente enfoque deve-se ao número crescente de notificações de animais de companhia infetados ou colonizados com microrganismos resistentes a múltiplos fármacos, clínica e epidemiologicamente importantes para a medicina humana. A relação cada vez mais próxima entre detentores e animais de companhia cria oportunidades de transmissão interespecies de bactérias resistentes, aliado ao facto destes animais também poderem funcionar como reservatório de genes de resistência (Belas et al., 2020; European Medicines Agency, 2013).

Uma abordagem “One Health” é essencial para combater o desenvolvimento e a disseminação de bactérias resistentes aos antimicrobianos (Overgaauw et al., 2020).

1. Animais de companhia e Uma Só Saúde (“One Health”)

O conceito de “Uma Só Saúde” é uma estratégia mundial que reconhece que a saúde humana está intimamente relacionada com a saúde dos animais e do meio ambiente, e que é necessária uma colaboração multidisciplinar e uma gestão integrada nestes diferentes domínios, de forma a melhorar a capacidade de monitorização das ameaças à Saúde Pública (Direção Geral de Saúde, 2019; Overgaauw et al., 2020; Schmiedel et al., 2014). Neste sentido, a Organização Mundial de Saúde (WHO), a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) definiram como prioritária a implementação de planos nacionais multissetoriais a nível global (Direção Geral de Saúde, 2019).

Grande parte das iniciativas de “Uma Só Saúde” centram-se na interação dos humanos com animais silvestres ou de produção porque a maioria das doenças infecciosas emergentes zoonóticas tiveram origem nestas espécies (Overgaauw et al., 2020). Recentemente constituído, o One Health European Joint Program (OHEJP) concentra as suas investigações nas zoonoses alimentares, na resistência antimicrobiana e nas ameaças emergentes, mas exclui o impacto dos animais de companhia nestes problemas (OHEJP, 2020; Overgaauw et al., 2020). De acordo com o One Health Committee da WSAVA (World Small Animal Veterinary Association) é necessário assegurar que os animais de companhia sejam reconhecidos como parte significativa da “Uma Só Saúde” e que sejam incluídos nas iniciativas propostas (WSAVA, 2011). Várias doenças infecciosas zoonóticas podem ser transmitidas, direta ou indiretamente, pelos animais de companhia. Por outro lado, os animais de companhia podem servir de sentinelas na identificação precoce de doenças infecciosas ou de contaminação alimentar ou ambiental, pois partilham o mesmo ambiente que os seus detentores (Overgaauw et al., 2020). Assim o One Health Committee da WSAVA considera que existem três áreas principais da “Uma Só Saúde” relativamente aos animais de companhia: (1) o vínculo humano-animal de companhia; (2) medicina comparada e translacional; (3) doenças infecciosas zoonóticas (WSAVA, 2011). A relação entre a Saúde Animal e a Saúde Pública no que respeita aos animais de companhia pode ser descrita como a partilha do mesmo ambiente e a capacidade de serem infetados pelos mesmos microrganismos (zoonoses), e ser possível que o tratamento antimicrobiano consista nas mesmas moléculas usadas em medicina humana (WSAVA, 2011; Overgaauw et al., 2020).

O combate à resistência antimicrobiana ilustra muito bem o paradigma de “Uma Só Saúde” (Amaro et al., 2019; Dalfino et al., 2019).

2. O papel dos animais de companhia na resistência antimicrobiana

Os animais de companhia, nomeadamente o cão e o gato, proporcionam benefícios relevantes para a sua saúde física, mental e social dos seus detentores. São hoje considerados no mundo ocidental como parte integrante das famílias e partilham muitas vezes o mesmo espaço (Overgaauw et al., 2020; Takashima & Day, 2014). O número de animais de companhia tem aumentado consistentemente ao longo dos anos (Belas et al., 2020), e em 2019 foi estimado que 85 milhões de lares europeus albergavam pelo menos um animal de companhia. Segundo dados da Federação Europeia da Indústria de Alimentação de Animais de Companhia, o mercado europeu da pet food faturou 21 mil milhões de euros em 2019 (FEDIAF, 2019).

Os animais de companhia desempenham ainda outras funções relevantes para a sociedade como a terapia assistida por animais que consiste na utilização de animais como coterapeutas, ou seja, são o elo de ligação entre os profissionais de saúde e os pacientes, e a sua presença melhora a capacidade comunicativa e o bem-estar, pela diminuição da ansiedade, demência, solidão e depressão dos utentes de lares de idosos, instituições de saúde mental, hospitais, clínicas de reabilitação, entre outros. Há ainda cães de assistência que são treinados para auxiliar pessoas com diversos tipos de incapacidades, cegueira, surdez, epilepsia, diabetes, deficiência física e emocional, e a capacidade olfativa canina foi reconhecida como uma ferramenta diagnóstica na identificação de diversas doenças em humanos, nomeadamente doenças oncológicas e endócrinas (Overgaauw et al., 2020; Takashima & Day, 2014).

Nas últimas décadas, o progresso no campo da Medicina Veterinária e o desenvolvimento de políticas relacionadas com a saúde e o bem-estar animal permitiram melhorar muito a qualidade de vida dos animais de companhia, tendo o recurso aos antibióticos desempenhado um papel fundamental nesta trajetória. Porém, o abuso da utilização destes fármacos quer com fins profiláticos como terapêuticos, bem como a generalização do recurso a antibióticos de largo espectro, são apontados como os principais responsáveis pelas elevadas taxas de resistências atualmente registadas (Medina & Pieper, 2016; Weese et al., 2015; Marchetti et al., 2021). O médico veterinário de animais de companhia tem acesso a uma maior variedade de antimicrobianos autorizados do que o médico veterinário de animais de produção, e utiliza por vezes as mesmas moléculas de Medicina Humana que constituem a “última linha” de tratamento de infeções potencialmente fatais nas pessoas (Pomba et al., 2017; Weese et al., 2015; European Medicines Agency, 2019). Os carbapenemos, linezolida e vancomicina são exemplos de antibióticos cuja administração nos animais de companhia deve ser expressamente restrita, de forma a preservar a sua eficácia contra infeções multirresistentes graves. A sua utilização deve apenas ser equacionada em casos excecionais que cumpram

os seguintes critérios: 1) a infecção é potencialmente fatal ou causa dor extrema no animal; 2) a infecção foi confirmada por exame bacteriológico; 3) a bactéria exibe resistência *in vitro* aos antibióticos ensaiados no teste de sensibilidade aos antibióticos (TSA) realizado num laboratório acreditado; 4) há uma expectativa razoável de recuperação do animal após a administração do antibiótico; 5) os médicos veterinários consultaram especialistas em microbiologia e em medicina interna sobre outras terapêuticas possíveis e não lhes foram oferecidas outras alternativas (Jessen et al., 2019).

Nem sempre se recorre à realização de culturas bacterianas e ao TSA para fundamentar a escolha dos fármacos a administrar, prevalecendo a terapia empírica na prática clínica. Apesar de os médicos veterinários estarem cada vez mais conscientes da importância da realização de análises bacteriológicas na prevenção da resistência antimicrobiana, são confrontados regularmente com diversos impedimentos à sua execução, sendo um dos principais motivos a contenção monetária por parte dos detentores (Norris et al., 2019; Weese et al., 2015). A decisão de prescrever ou de administrar antibióticos para satisfazer as expectativas dos clientes é uma das principais razões para o uso excessivo de antibióticos e a boa comunicação entre o médico veterinário e os clientes é essencial para gerir esta situação (Norris et al., 2019). É preciso enfatizar que a prescrição destas moléculas não pode ser banalizada e só deve ser empregue quando estritamente necessária (European Medicines Agency, 2019). Os detentores dos animais devem cumprir as indicações dadas pelo médico veterinário relativas à administração da medicação e aos cuidados de higiene a adotar na manipulação do animal. A prevenção de doenças através da implementação de planos de vacinação eficazes, check-up regulares e conselhos nutricionais, são fatores importantes na redução da resistência antimicrobiana, na medida em que diminuem a necessidade de uso destas moléculas (Weese et al., 2015).

É vital que haja um controlo eficaz do consumo de antibióticos nos animais de companhia. Os dados das vendas de antibióticos permitem calcular uma estimativa do seu consumo, mas nestes animais não deve descartar-se a possibilidade de usos off-label, especialmente de antibióticos licenciados para uso humano (European Medicines Agency, 2013; Pomba et al., 2017). Atualmente na União Europeia ainda não há dados oficiais relativos à prescrição de antibióticos off-label na medicina veterinária e, como tal o consumo de antibióticos nos animais de companhia permanece subestimado. A Agência Europeia dos Medicamentos (EMA) reforça que de acordo com a legislação em vigor, o uso off-label deve ser apenas empregue excecionalmente, uma vez que os potenciais riscos à sua prática incluem a falta de eficácia e o aumento de resistência antimicrobiana, impondo sérios riscos para a Saúde Pública e Animal (European Medicines Agency, 2017).

3. Categorização de antimicrobianos de importância crítica

A OIE e a WHO publicam regularmente listas de agentes antimicrobianos atualizadas, com a finalidade de salvaguardar a eficácia através do seu uso prudente e responsável. É preciso mencionar que o termo "antimicrobiano" aplica-se a substâncias usadas para tratar infecções e inclui agentes antibacterianos, antivirais, antifúngicos, antiparasitários e antibióticos (Asif, 2017). A 1ª lista foi criada em 2005, com base nas recomendações do painel de peritos que participou em duas reuniões organizadas pela FAO, WHO e OIE em 2003 e 2004 (WHO, 2018).

Em 2018 a WHO divulgou a 6ª lista, alicerçada na atualização dos antimicrobianos criticamente importantes (CIA) para a medicina humana e categorizou-os em antimicrobianos de importância crítica de elevada prioridade (*Highest Priority Critically Important Antimicrobials - HPCIA*), antimicrobianos de importância crítica (*Critically Important Antimicrobials - CIA*), antimicrobianos de elevada importância (*Highly Important Antimicrobials - HIA*) e antimicrobianos importantes (*Important Antimicrobials - IA*).

A WHO baseou esta categorização nos seguintes dois critérios: 1º) a classe antimicrobiana é a única, ou uma das poucas terapêuticas disponíveis para tratar infecções graves nos humanos; 2º) a classe antimicrobiana é utilizada no tratamento de infecções causadas por bactérias que podem ser transmitidas a humanos por fontes não humanas, ou por bactérias que podem adquirir genes de resistência através de fontes não humanas. Considerando estes critérios, a CIA cumpre a ambos, HIA apenas a um, a IA não cumpre nenhum dos critérios (WHO, 2018).

Para fazer a distinção entre as categorias HPCIA e CIA são utilizados fatores de priorização como: i) número de pessoas que possam vir a precisar da terapêutica; ii) frequência e intensidade do uso de antimicrobianos; iii) volume de evidências científicas comprovativas da transmissão regular de bactérias resistentes ou dos seus elementos genéticos (WHO, 2018). Embora a categorização de antimicrobianos da WHO e da OIE se sobreponha em algumas moléculas, os critérios definidos pelas duas organizações são distintos. Os critérios usados pela OIE baseiam-se: i) na resposta ao questionário sobre antimicrobianos de importância veterinária; ii) no tratamento de doenças graves nos animais; iii) na disponibilidade de antimicrobianos alternativos. A categoria de antimicrobianos de importância crítica veterinária (*Veterinary Critically Important Antimicrobial Agents - VCIA*) atende a ambos os critérios, enquanto a categoria de antimicrobianos de elevada importância veterinária (*Veterinary Highly Important Antimicrobial Agents - VHIA*) atende apenas a um dos critérios e, por fim, a categoria de antimicrobianos importantes (*Veterinary Important Antimicrobial Agents - VIA*) não cumpre nenhum dos critérios referidos (OIE, 2018; European Medicines Agency, 2019). O relatório da

EMA publicado em 2014 reportava três categorias de antimicrobianos: a categoria 1 que correspondia aos antimicrobianos usados em Medicina Veterinária de baixo risco para Saúde Pública; a categoria 2 que reunia os antimicrobianos usados em Medicina Veterinária de elevado risco para Saúde Pública; a Categoria 3 dos antimicrobianos não aprovados para utilização em Medicina Veterinária (European Medicines Agency, 2014). Em 2019, a Comissão Europeia solicitou à EMA uma atualização dos pareceres científicos sobre o impacto na Saúde Pública e na Saúde Animal da utilização de antimicrobianos nos animais, da qual resultou uma nova grelha que distribui os antimicrobianos em 4 categorias: evitar (“Avoid”); Restringir (“Restrict”); Cuidado (“Caution”); Prudência (“Prudence”). Esta categorização respeita as listas de CIA publicadas pela OIE e pela WHO, e promove um equilíbrio entre as necessidades da Saúde Animal e Humana, bem como a proteção da Saúde Pública (European Medicines Agency, 2019).

A categoria A (“Evitar”) inclui as classes de antibióticos não autorizados em Medicina Veterinária na União Europeia, mas que podem ser usados excecionalmente nos animais de companhia ao abrigo da “cascata”. Corresponde à anterior categoria 3.

A categoria B (“Restringir”) é composta pela categoria HPCIA, excetuando os macrólidos e os restantes antimicrobianos presentes na categoria A. Inclui também as fluoroquinolonas, as cefalosporinas de 3ª e 4ª geração e as polimixinas. Os antibióticos incluídos nesta categoria são extremamente importantes em Medicina Humana. A sua aplicação em animais deve ser apenas considerada quando não hajam antibióticos das categorias C e D clinicamente eficazes, e a sua escolha deve basear-se nos resultados de TSA sempre que possível (European Medicines Agency, 2019).

Em 2014 a EMA colocou provisoriamente os aminoglicosídeos e as subclasses penicilina e aminopenicilina na categoria 2. No entanto, ao longo dos anos, o uso destes antibióticos em Medicina Veterinária revelou-se de baixo risco para a Saúde Pública comparativamente com as classes quinolonas e cefalosporinas de 3ª e 4ª gerações (European Medicines Agency, 2018a; European Medicines Agency, 2018b). Para corrigir esta situação, a EMA criou em 2019 uma categoria intermédia (categoria C “Cuidado”). Estes antibióticos só devem ser utilizados quando não existam outros eficazes na Categoria D. Esta categoria reúne os antibióticos e restantes antimicrobianos para os quais existem alternativas em Medicina Humana. Para algumas indicações veterinárias não existem alternativas pertencentes à categoria D (European Medicines Agency, 2019).

A categoria D (“Prudência”) é a categoria de mais baixo risco para a Saúde Pública devem ser usados como 1ª linha de tratamento sempre que possível. Inclui antibióticos para os quais existem alternativas em Medicina Veterinária e Humana. Porém, o seu uso desnecessário e por períodos prolongados deve ser evitado. Além disso, a terapia de grupo deve ser restrita a situações em que o tratamento individual não é viável (European Medicines Agency, 2019).

Esta categorização não é uma diretriz de tratamento antimicrobiano, mas deve servir de apoio à sua elaboração (European Medicines Agency, 2019). A Dinamarca, a França, a Suécia, a Suíça e a Holanda desenvolveram e já implementaram diretrizes nacionais específicas para os animais de companhia com o objetivo de promover uma conduta prudente na prescrição de antimicrobianos e reduzir o seu consumo (World Veterinary Association, 2018).

4. Bactérias multirresistentes nos animais de companhia

Sobretudo nas últimas duas décadas, várias bactérias multirresistentes zoonóticas foram identificadas nos animais de companhia, doentes e saudáveis, com destaque para *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina (MRSP) e *Enterobacteriaceae* produtoras de β -lactamases de espectro alargado (ESBL) e de carbapenemases (Belas et al., 2020; Dazio et al., 2021; Schmidt et al., 2020).

Tal como se observa em medicina humana, as infeções nosocomiais (adquiridas em ambiente hospitalar) multirresistentes são cada vez mais frequentes nos animais, embora ocorram em menor escala (Stull & Weese, 2015). Tendem a ser identificadas em pacientes de unidades de cuidados intensivos, em internamentos prolongados e associadas ao elevado consumo de antibióticos, muitos dos quais pertencentes às classes HPCIA e CIA (Gibson et al., 2008; Nigg et al., 2019).

É essencial que hospitais e clínicas veterinárias desenvolvam programas de controlo e prevenção de doenças infecciosas (IPC¹) adaptados às suas especificidades, como o tipo de instalações, natureza das equipas de profissionais de saúde, espécies animais admitidas e microrganismos patogénicos mais diagnosticados (Buckner et al., 2018; Schmidt et al., 2020; Stull & Weese, 2015). Schmidt et al. (2020) avaliaram os IPC de sete clínicas veterinárias na Suíça e relacionaram-nos com os isolados multirresistentes encontrados no ambiente hospitalar, nas pessoas e nos animais. Concluíram que IPC insuficientes são uma ameaça para a Saúde Pública e que as clínicas veterinárias podem ser espaços de desenvolvimento e disseminação de bactérias multirresistentes entre pacientes, detentores, médicos veterinários, enfermeiros veterinários e na população geral. As mãos dos médicos veterinários e dos trabalhadores dos Centros de Atendimento Médico-Veterinário (CAMV) são o veículo mais comum de transmissão de microrganismos entre pacientes dos CAMV e a higiene das mãos é a medida que apresenta melhores resultados no controlo de infeções hospitalares (Anderson & Weese, 2016). Espadale et al. (2018) concluíram que o uso de álcool gel foi

¹ IPC - acrónimo de Infection, Prevention and Control.

eficaz e até superior na redução de microrganismos do que a lavagem das mãos com sabão normal. Além de eficiente, o álcool gel é conveniente por ser de aplicação rápida, o que aumenta a adesão dos trabalhadores aos protocolos hospitalares de higiene das mãos, considerando que a falta de tempo surge como a principal razão para o fraco cumprimento (Anderson & Weese, 2016).

É aconselhada a monitorização das bactérias epidemiologicamente mais relevantes nos animais de companhia hospitalizados. Testar uma amostra representativa dos pacientes durante a alta clínica permite identificar os CAMV de elevado risco de transmissão destas bactérias, bem como melhorar os IPC e os padrões de higiene desses CAMV (Nigg et al., 2019).

A implementação de IPC na clínica de animais de companhia, apesar de ainda ser pouco frequente, é a melhor forma de alcançar um ambiente hospitalar seguro e controlado, reduzindo a transmissão de agentes patogénicos entre animais e humanos (Stull & Weese, 2015). É necessário investir em programas educacionais direcionados para os estudantes de medicina veterinária e médicos veterinários no ativo para realçar a importância da adoção de IPC, independentemente das dimensões e especificidades dos CAMV (Schmidt et al., 2020), convergindo para a premência da abordagem colaborativa, multissetorial e transdisciplinar da Uma Só Saúde.

Está identificado e quantificado que as infeções multirresistentes estão associadas ao aumento da morbilidade, da mortalidade e dos custos relacionados com o tratamento, nomeadamente internamentos prolongados, exames de diagnóstico, recurso a antibióticos mais dispendiosos e a terapêuticas de longa duração (Weese et al., 2015). Contudo, isto não significa necessariamente que as estirpes sejam mais virulentas quando comparadas com as suas homólogas suscetíveis (*susceptible counterparts*). Frequentemente é a falha do tratamento empírico que atrasa a administração da terapêutica adequada agravando o prognóstico (Magiorakos et al., 2012). Por exemplo, as autoridades reguladoras europeias licenciaram fluoroquinolonas e cefalosporinas para o tratamento de infeções comuns do trato urinário, pele e feridas superficiais nos animais de companhia. Contudo é conhecido que o uso destas moléculas aumenta o desenvolvimento de *Escherichia coli* produtora de ESBL e de *Staphylococcus* resistente à metilina (Pomba et al., 2017; European Medicines Agency, 2019). A *Escherichia coli* produtora de ESBL é frequentemente isolada no trato urinário. O desafio terapêutico assenta, portanto, na resistência frequente aos β -lactâmicos, Trimetoprima-Sulfametoxazol (TMS) e fluoroquinolonas que são os antibióticos mais usados no tratamento de infeções do trato urinário (ITU). A seleção do antibiótico deve ser guiada pelo resultado do TSA e pelo tipo de infeção presente. Se o isolado for resistente a todos os antibióticos licenciados para uso veterinário, o clínico é forçado a receitar *off-label* e por vezes essas moléculas induzem efeitos adversos mais graves. A nitrofurantoína é extremamente

eficaz contra estas bactérias, mas é mais apropriada no tratamento de infecções não complicadas do trato urinário dada a sua curta meia-vida plasmática e potenciais efeitos colaterais gastrointestinais (Jessen et al., 2019). Exemplificando, este antibiótico era a única opção terapêutica viável num caso clínico de um gato com uma ITU causada por MRSP multirresistente e *Enterococcus faecalis*, internado devido a obstrução uretral recorrente. Ambas as bactérias apresentavam sensibilidade à nitrofurantoína e após a sua administração, o animal recuperou totalmente (Pomba et al., 2010). Outras opções terapêuticas seriam o cloranfenicol que pode causar supressão da medula óssea e os aminoglicosídeos, como a gentamicina e a amicacina que são potencialmente nefrotóxicos, devendo ser evitados em pacientes com insuficiência renal. Jessen et al. (2019) enfatizam que os isolados de *Escherichia coli* produtores de ESBL são geralmente sensíveis aos carbapenemos (por exemplo o imipenem), mas estes antibióticos não são licenciados para Medicina Veterinária e o seu uso requer extrema ponderação como referido anteriormente. Apesar de não ser utilizado com frequência nos animais de companhia, há cada vez mais notificações de resistência aos carbapenemos nestes animais (Nigg et al., 2019).

Nigg et al. (2019) demonstraram pela primeira vez na Suíça a infecção por *E. coli* ST410 produtora de OXA-181 associada à hospitalização de animais de companhia. Colheram amostras fecais de 100 cães e de 34 gatos na admissão e posteriormente a 76 dos 100 cães e a 21 dos 34 gatos durante a alta clínica, num hospital de referência. Os restantes 37 animais não estavam disponíveis para nova colheita ou tinham falecido durante a hospitalização. O clone de *Escherichia coli* produtor de carbapenemase foi detetado em 17/76 cães e em 4/21 gatos após hospitalização (21,6%), e apenas um dos animais testados na admissão obteve resultado positivo (0,75%), o que é indicativo de infecção em ambiente hospitalar. Todos os gatos e 13/17 cães estiveram internados na Unidade de Cuidados Intensivos do hospital e 14/17 cães e 3/4 gatos foram sujeitos a tratamento antimicrobiano, mas nenhum foi medicado com carbapenemos. Todos os isolados eram portadores do gene bla_{OXA-181}, que tem sido associado a baixos níveis de resistência aos carbapenemos, mas que neste caso apresentava resistência ao ertapenemo. Estes antibióticos não são usados com frequência em medicina veterinária, logo não é provável que sejam os responsáveis pela seleção do clone ST410. O uso de fluoroquinolonas e de β -lactâmicos pode ter contribuído para a seleção deste clone ou dos seus plasmídeos, uma vez que os isolados também exibiram resistência a estas classes de antibióticos. A elevada relação genética entre os isolados, incluindo plasmídeos idênticos sugerem a existência de uma fonte comum de contaminação no hospital. A colonização ou infecção por *Enterobacteriaceae* ou *Staphylococcus* resistente à metilicina não é exclusiva de doentes hospitalizados. Na população há pessoas saudáveis e pacientes não hospitalizados que estão infetados por estas bactérias (Belas et al., 2020). A maioria dos animais colonizados

durante a hospitalização podem excretar estas bactérias após a sua alta clínica (Kjellman et al., 2015; Nigg et al., 2019; Schmitt et al., 2021).

MRSP podem ser isolados em animais saudáveis sem historial recente de infeções nem de terapia antimicrobiana, o que é preocupante pois sendo portadores assintomáticos podem disseminar MRSP nas populações e nos ecossistemas (Kjellman et al., 2015; Pomba et al., 2017; Windahl et al., 2016). Num estudo piloto, realizado por Kjellman et al. (2015) na Noruega, foram isolados em 5 (2,6%) cães saudáveis que frequentavam clínicas diferentes (N=3). Os isolados portadores de MRSP eram geneticamente relacionados com as variantes presentes nos cães doentes: ST306 (isolado num portador) relacionado com ST258 isolado em cães com infeções; ST252 (isolado em dois portadores) que correspondia a isolados clínicos de MRSP. Este estudo realça a necessidade de monitorização futura e de programas de prevenção e controlo de infeções e de resistência aos antimicrobianos (*antimicrobial stewardship*).

Nigg et al., (2019) identificaram que dois animais de companhia positivos para *E. coli* ST410 eram ainda portadores da bactéria passados 4 meses da alta hospitalar, sendo que aos 6 meses eram já negativos. Esta situação ilustra o potencial risco de colonização/infeção dos profissionais de saúde dos CAMV, dos detentores e de outros animais que contactem diretamente com o animal infetado ou indiretamente, através de ambiente contaminado por exemplo com fezes dos animais infetados (Belas et al., 2020; European Medicines Agency, 2013; Overgaauw et al., 2020; Hartantyo et al., 2018).

Schmitt et al., (2021) analisaram a ocorrência de *Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL na Unidade de Cuidados Intensivos de um hospital veterinário e nas casas de dois cães após terem tido alta clínica. Ambos os cães tinham sido colonizados durante o internamento. Um dos cães ficou persistentemente colonizado, com isolamentos até ao 77º dia; 24% das superfícies analisadas da sua casa testaram positivo para *Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL; os detentores dos dois cães foram colonizados. De acordo com sequência genómica completa, os isolados dos detentores, dos cães e do ambiente hospitalar, pertenciam à mesma família ("cluster"), representando um problema de Saúde Pública e Ambiental.

5. Resistência intrínseca e adquirida

As bactérias podem apresentar resistência intrínseca aos antibióticos que é definida como resistência inata/natural transmitida apenas verticalmente (de geração em geração) e como tal, exibida pelos organismos da mesma espécie. Um exemplo deste tipo de resistência é o das bactérias Gram-negativas que são intrinsecamente resistentes aos glicopeptídeos.

Isto ocorre porque a molécula é de grandes dimensões, o que impede a sua difusão via canais de porina na membrana celular externa (Tenover, 2006; Woodford & Ellington, 2007).

A resistência adquirida é a mais importante no que se refere à problemática das resistências antimicrobianas, tanto em medicina humana como veterinária. Esta resistência pode resultar da mutação de genes reguladores ou estruturais, da aquisição de genes veiculados por elementos genéticos móveis ou pela combinação destes dois mecanismos. A aquisição de genes de resistência ocorre frequentemente através de elementos móveis, como plasmídeos, transposões ou integrões. Os genes que codificam as β -lactamases são exemplos de genes possivelmente disseminados pelos plasmídeos, sendo facilmente adquiridos por diversas bactérias patogénicas (Harbottle et al., 2006; Schmiedel et al., 2014). A transmissão vertical é o mecanismo pelo qual as bactérias, durante a replicação do ácido desoxirribonucleico (ADN), transmitem mutações ou genes de resistência à descendência. Na transmissão horizontal, as bactérias transferem preferencialmente os genes que codificam resistência às bactérias da mesma espécie, mas também podem transferi-los a organismos filogeneticamente distantes (Andersson & Hughes, 2017; Wiedenbeck & Cohan, 2011). Plasmídeos, bacteriófagos e ADN extracelular são os principais mecanismos de transferência horizontal, através de processos de conjugação, transdução e transformação, respetivamente. Na conjugação, a transferência de material genético ocorre através do contacto direto entre duas células bacterianas, envolvendo plasmídeos ou transposões. Na transdução, a transferência é mediada por bacteriófagos que agem como vetores na ausência de contacto direto entre as células. Na transformação, a bactéria capta e incorpora no seu genoma ou plasmídeo os fragmentos livres de ADN provenientes da lise de outra célula (Andersson & Hughes, 2017; Bennett, 2008; Lerminiaux & Cameron, 2019; Tenover, 2006; Wiedenbeck & Cohan, 2011).

Os transposões são segmentos de ADN capazes de se movimentar entre diferentes regiões do genoma bacteriano, permitindo assim, a transferência e incorporação de genes de resistência adquiridos no genoma do hospedeiro ou em plasmídeos. Os integrões são estruturas genéticas com capacidade de captação e integração de vários genes de resistência aos antibióticos. Como não tem mobilidade própria associam-se a plasmídeos ou a transposões (Bennett, 2008; Tenover, 2006). Os plasmídeos são pequenos segmentos de ADN bacteriano, capazes de se replicarem de forma independente e que possuem genes de virulência e genes de resistência. A aquisição de novos genes através de elementos genéticos móveis, como transposões ou sequências de inserção (forma simples de transposição), associado à capacidade dos plasmídeos replicarem numa ampla gama de hospedeiros, torna-os em vetores excelentes para a disseminação da resistência antimicrobiana (Rozwandowicz et al., 2018; ;Bennett, 2008; Tenover, 2006).

6. β -lactâmicos

Os antibióticos β -lactâmicos são amplamente utilizados na medicina veterinária e medicina humana devido à sua eficácia terapêutica, baixa toxicidade e propriedades farmacocinéticas. São eleitos na antibioterapia de primeira linha para tratamento de infecções causadas por *Enterobacteriaceae* (Livermore & Woodford, 2006; Suárez & Gudíol, 2009). É a classe de antibióticos mais diversificada, sendo constituída por penicilinas, cefalosporinas, inibidores de β -lactamases (ácido clavulânico, sulfactam e tazobactam), carbapenemos e monobactams (Greene & Boothe, 2012). Caracterizam-se pela presença comum de uma estrutura cíclica denominada anel β lactâmico, composto por três átomos de carbono e um átomo de azoto. O núcleo de cada classe - anel beta-lactâmico e anel secundário -, é responsável pelo mecanismo de ação, enquanto as cadeias laterais são responsáveis pelo espectro de ação e as características farmacológicas (Lakshmi et al., 2014; Lima et al., 2020).

7. Mecanismos de resistência aos antibióticos β -lactâmicos

A resistência aos antibióticos β -lactâmicos pode decorrer de várias situações: i) modificação no local-alvo de ligação; ii) diminuição da permeabilidade da membrana celular por alterações nos canais de porina; iii) existência de bombas de efluxo; iv) produção de enzimas β -lactamases, que constituem o principal mecanismo de resistência nas bactérias Gram-negativas (Drawz & Bonomo, 2010).

A resistência mediada pela modificação no local-alvo de ligação resulta de alterações no lugar ativo das proteínas de ligação à penicilina (PBP²) na célula bacteriana, resultando na diminuição da afinidade para os β -lactâmicos por dificultar a ligação dos mesmos ao local de ação (Livermore & Woodford, 2006). As porinas são proteínas da membrana externa (ME) das bactérias Gram-negativas que atuam como canal de entrada, uma vez que os antibióticos β -lactâmicos penetram na bactéria por difusão passiva através das PBP na ME. Quando existem alterações na expressão ou faltas de porinas, a permeabilidade dos antibióticos β -lactâmicos na célula é restringida (Drawz & Bonomo, 2010). As bombas de efluxo são proteínas membranares específicas que promovem a expulsão de diversos antibióticos para o meio extracelular, fazendo com que a concentração no meio intracelular seja insuficiente para assegurar efeito terapêutico, permitindo a sobrevivência das bactérias até que sejam selecionadas aquelas com mutações capazes de determinar níveis de resistência clinicamente importantes (Drawz & Bonomo, 2010).

² PBP - acrónimo de *penicillin-binding proteins*.

8. β -lactamases

As β -lactamases são moléculas enzimáticas produzidas por bactérias Gram-negativas, capazes de hidrolisar o anel β -lactâmico, conferindo à bactéria resistência a β -lactâmicos específicos. Apresentam uma variabilidade significativa nas sequências de aminoácidos, sendo por essa razão um dos grupos de enzimas com maior heterogeneidade. São o principal mecanismo de resistência aos β -lactâmicos nas bactérias Gram-negativas. A detecção destas moléculas enzimáticas ocorreu no início dos anos 40 do século XX, previamente à comercialização generalizada da penicilina, demonstrativo da ocorrência natural de β -lactamases em algumas bactérias (Bradford, 2001).

A presença e as características destas enzimas desempenham um papel crucial na seleção da terapêutica mais adequada, visto que as penicilinas, as cefalosporinas e os carbapenemes são frequentemente incluídos no tratamento de várias doenças infecciosas. (Bush & Jacoby, 2010)

Atualmente as β -lactamases são classificadas, sobretudo com base em dois esquemas gerais: i) classificação de Ambler, estabelecida de acordo com a homologia da sequência de aminoácidos (Ambler, 1980); ii) classificação de Bush e Jacoby fundamentada nas características funcionais das enzimas (Bush & Jacoby, 2010).

A classificação molecular de Ambler estabelece quatro classes (A, B, C e D) e as β -lactamases que pertencem às classes A, C e D são denominadas β -lactamases-serina, pois possuem um resíduo de serina no centro ativo. A classe B é formada por íons de zinco no seu centro ativo, sendo por isso designada de metalo- β -lactamases (Ambler, 1980). A classificação de Bush e Jacoby foi desenvolvida com base nos substratos e nos perfis de inibição. As β -lactamases são divididas em três grupos principais: cefalosporinases (grupo 1), serino- β -lactamases (grupo 2) e metalo- β -lactamases (grupo 3); sendo cada grupo composto por vários subgrupos, classificados consoante a sua capacidade de hidrolisar classes específicas de β -lactâmicos e as características dos inibidores das β -lactamases, ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam (Bush & Jacoby, 2010).

As β -lactamases do grupo 1, associadas à classe C de Ambler, hidrolisam as cefalosporinas de espectro alargado e inativam todos os beta-lactâmicos, com a exceção dos carbapenemos. Estas cefalosporinases não são inativadas pelo ácido clavulânico (Bush & Jacoby, 2010).

O grupo 2, inclui as classes A e D de Ambler, representa o maior grupo de β -lactamases e, como tal, vários subgrupos com perfis de substratos distintos (cefalosporinas, carbapenemos, entre outros). Inclui as β -lactamases sensíveis ao ácido clavulânico (Bush & Jacoby, 2010).

O grupo 3 engloba as metalo β -lactamases da classe B de Ambler que hidrolisam carbapenemos, mas ao contrário de outras carbapenemases, as metalo-carbapenemases

não são inativadas pelo ácido clavulânico nem pelo tazobactam, mas pelo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (Bush & Jacoby, 2010).

O grupo 4, inserido na classificação funcional de 1995, foi excluído da classificação mais recente de Bush e Jacoby, por a escassez de informação disponível impossibilitar a sua caracterização integral (Bush & Jacoby, 2010).

9. β -lactamases de espectro alargado

As β -lactamases de espectro alargado (ESBLs) são enzimas que conferem resistência a um largo espectro de antibióticos β -lactâmicos, especificamente às penicilinas, cefalosporinas (incluindo as de espectro alargado) e monobactams (aztreonam). Têm ainda como característica, o facto de serem inibidas por inibidores de beta-lactamases, como o ácido clavulânico, o sulbactam e o tazobactam (Rubin & Pitout, 2014).

As ESBLs são enzimas de grande relevância em Saúde Animal e Humana, uma vez que se tem verificado uma ampla disseminação a nível mundial nas últimas décadas (Dhillon & Clark, 2012).

Atualmente, as ESBLs são as beta-lactamases mais encontradas entre *Enterobacteriaceae*, particularmente na espécie *Escherichia coli* (Chen et al., 2019; Schmiedel et al., 2014). Os genes de ESBLs são frequentemente codificados por plasmídeos e são facilmente transmitidos por conjugação a outras bactérias, até mesmo de espécies diferentes. Além disso, vários genes de resistência estão localizados em elementos genéticos móveis, como sequências de inserção e transposões. A transferência horizontal de genes e a recombinação contínua de ADN torna extremamente difícil monitorizar as vias de transmissão dos genes ESBL nas populações bacterianas (Schmiedel et al., 2014).

Atualmente, conhecem-se mais de 200 tipos de ESBLs, derivando a maioria das β -lactamases TEM-1, TEM-2 e SHV-1, após terem ocorrido substituições aminoacídicas no sítio ativo. Os tipos de ESBLs são distribuídos por três classes principais - CTX-M, SHV e TEM -, pertencentes à classe A de Ambler e a diversos subgrupos funcionais. CTX-M insere-se no subgrupo 2be, enquanto as classes SHV e TEM correspondem aos subgrupos 2b, 2be e 2br da classificação de Bush e Jacoby. As três classes - CTX-M, SHV e TEM -, já foram identificadas em animais (Bush & Jacoby, 2010; Rubin & Pitout, 2014; Jessen et al., 2019). Ao contrário das enzimas da família TEM e SHV, a maioria das enzimas CTX-M hidrolisam melhor a cefotaxima do que a ceftazidima. Por oposição às ESBLs do tipo TEM e SHV, as CTX-M são melhor inibidas pelo tazobactam do que pelo ácido clavulânico (Bradford, 2001; Bush & Jacoby, 2010). As β -lactamases CTX-M são atualmente o tipo de ESBL predominante geograficamente, tendo ultrapassado na Europa as β -lactamases TEM e SHV, quer em humanos quer nos animais (Belas et al., 2014). Portugal está entre os países europeus com

maior frequência de detecção de ESBL, principalmente TEM e CTX-M (Fernandes et al., 2014; Machado et al., 2013).

Chen et al. (2019) num estudo realizado em cães e gatos na República Popular da China descobriram que todos os isolados portadores de *bla*_{CTX} apresentavam um perfil de multirresistência, com elevados níveis de resistência aos β -lactâmicos, fluoroquinolonas, doxiciclina, gentamicina e cloranfenicol. Esta observação indicia que outros genes de resistência possam ser co-transferidos juntamente com *bla*_{CTX}. A existência de múltiplos determinantes de resistência sugere que o uso de qualquer um dos fármacos para o qual ocorre resistência, por exemplo beta-lactâmicos como cefalosporinas de 3ª geração e amoxicilina-ácido clavulânico (AMC), tenha um efeito seletivo, podendo selecionar resistência a outros antibióticos, dificultando o controlo da disseminação de multirresistentes a antibióticos (MDR) (Chen et al., 2019).

Carvalho et al., (2020) avaliaram a presença de *Klebsiella pneumoniae* produtora de beta-lactamases em amostras fecais de 125 cães saudáveis (de canis e de detentores) e de 231 cães doentes hospitalizados em sete hospitais veterinários em Portugal. Os isolados de *K. pneumoniae* foram obtidos de 16 amostras (4,4%), sendo 15 produtores de ESBL e portadores dos seguintes genes β -lactamases: *bla*_{CTX-M-15}+*bla*_{SHV-28} (4 isolados e 3 deles ainda associados a *bla*_{TEM-1}), *bla*_{CTX-M-15}+*bla*_{SHV-1} (5 isolados e 3 deles ainda associados a *bla*_{TEM-1}) e *bla*_{SHV-28}+*bla*_{TEM-1} (6 isolados). Concluíram que estes cães eram portadores de *K. pneumoniae* ESBL abrangendo principalmente genes que codificam CTX-M-15 ou SHV-28.

Tal como reportado nos animais de companhia, a detecção de TEM, SHV e CTX-M também é frequente nas pessoas. Belas et al. (2020) publicaram o primeiro estudo que detetou o gene *bla*_{SHV-27} em amostras fecais de humanos saudáveis em Portugal e na Europa. Tal como na evidência científica acumulada na medicina humana, as ESBLs do tipo CTX-M (CTX-M-1, 14 e 15) também predominam nas publicações relativas aos animais de companhia, mas também tem sido identificada a presença de SHV-12 e TEM-52. Nos animais de companhia parece existir uma variação geográfica da presença da enzima CTX-M, com CTX-M-1 mais frequente em África e na Europa, CTX-M-14 na Ásia e na América do Norte, e CTX-M-15 na América do Norte, Europa e África. Porém, são necessários mais estudos para caracterizar a distribuição geográfica destas enzimas (Rubin & Pitout, 2014). Na Dinamarca, a CTX-M-15 é a ESBL mais frequente em humanos e nos animais de companhia. Os isolados que produzem CTX-M-15 exibem um padrão característico de multirresistência que, além dos beta-lactâmicos, inclui fluoroquinolonas e TMS (Jessen et al., 2019).

Schmiedel et al. (2014) detetaram no estado de Hesse na Alemanha que os subtipos de ESBL mais frequentes nas amostras analisadas de humanos, cães, gatos e cavalos foram CTX-M-15 (49,3%) e CTX-M-1 (25,8%), respetivamente. Determinaram ainda que os isolados de humanos e animais compartilhavam diversas características em relação à presença de ESBL

e combinações de diferentes genes de resistência. Os resultados sugerem transmissão e disseminação ativa de *Enterobacteriaceae* multirresistentes entre populações humanas e animais, constituindo uma séria ameaça para a Saúde Pública e Animal.

Embora ainda existam poucos estudos referentes à colonização ou infecção de animais de companhia por organismos produtores de ESBL comparativamente com outras espécies animais, nomeadamente espécies pecuárias de interesse económico, o seu número tem vindo a aumentar nos últimos anos (Rubin & Pitout, 2014).

CAPÍTULO II – Investigação retrospectiva dos casos de infeções multirresistentes em cães e gatos internados na Unidade de Isolamento e Contenção Biológica do Hospital Escolar

1. Tipo de estudo e objetivos

Estudo observacional retrospectivo realizado no período de outubro de 2013 a outubro de 2020.

Objetivos: identificar e caracterizar as infeções bacterianas multirresistentes na população de animais de companhia hospitalizados na Unidade de Isolamento e Contenção Biológica (UICB) do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

2. Materiais e métodos

2.1 Critérios de inclusão e tamanho da amostra

Critérios de inclusão: todos os canídeos e felídeos internados na UICB no período de estudo, com análise bacteriológica e teste de suscetibilidade aos antibióticos compatíveis com multirresistência.

Foi adotado o conceito de “multirresistência” de Magiorakos et al. (2012): “*resistente a pelo menos 1 antibiótico em 3 ou mais categorias antimicrobianas*”. A resistência intrínseca não é relevante para esta classificação. Importa ainda referir que as categorias não são sinónimo de classes de antimicrobianos, mas antes representam grupos terapeuticamente relevantes. Por exemplo, a classe de β -lactâmicos é subdividida em 9 categorias para *Enterobacteriaceae* (Magiorakos et al., 2012).

Tamanho da amostra investigada: após a aplicação rigorosa dos critérios de inclusão mencionados foram elegíveis para o estudo, 30 animais de companhia, dos quais 17 canídeos e 13 felídeos.

2.2 Fontes de dados, processamento de dados e análise estatística

Foi construída uma base de dados em Microsoft® Office Excel 365 para Windows® para armazenamento e validação dos dados recolhidos de três fontes: i) fichas individuais dos pacientes disponíveis no software de gestão de clínicas e hospitais veterinários Guruvet, utilizado no HE; ii) fichas individuais de alguns pacientes recolhidas do Qvet, anterior software de gestão de clínicas e hospitais veterinários usado no HE; iii) resultados laboratoriais das análises bacteriológicas e dos TSA.

A análise estatística foi realizada no programa informático Microsoft® Office Excel 365 para Windows® e na função Statcalc do programa informático Epi Info™ versão 7.2.4.0.

2.3 Métodos de diagnóstico laboratorial

Foram realizadas análises bacteriológicas e TSA das bactérias isoladas a partir de amostras de tecidos ou de fluidos corporais.

As amostras biológicas foram urina (recolhida por cistocentese), cerúmen, pele, exsudado de feridas cutâneas, corrimento nasal e aspirado de linfonodos. A cada animal corresponde apenas 1 amostra.

As amostras biológicas foram processadas em três laboratórios: Laboratório de Resistência aos Antibióticos e Biocidas do CIISA-FMV; Laboratório de Microbiologia e Imunologia do CIISA-FMV; Laboratório Veterinário DNAtch.

A identificação da espécie do microrganismo isolado ocorreu em 80% dos isolados em ambas espécies de animais. (16/20 nos cães e 12/15 nos gatos)

Foram usadas duas técnicas para avaliar a sensibilidade aos antimicrobianos: determinação da concentração mínima inibitória (CMI); método de difusão em disco de Kirby-Bauer. O microrganismo foi classificado como sensível, intermédio ou resistente aos antibióticos testados.

2.4 Descrição das variáveis investigadas

Ano de admissão na UICB

Análise temporal das datas de admissão dos canídeos e felídeos diagnosticados com MDR.

Espécie animal

Canídeos e felídeos domésticos.

Género

Os felídeos e canídeos foram distribuídos por dois grupos: fêmeas ou machos.

Estado reprodutivo

Os felídeos e canídeos foram distribuídos por dois grupos: inteiros ou castrados.

Idade

A idade dos pacientes calculada em anos.

Escalão etário

Os felídeos e canídeos foram agrupados em seis escalões etários: <1 ano; ≥1 e <3 anos; ≥3 e <7 anos; ≥7 e <10 anos; ≥10 e <14 anos e ≥14 anos.

Raça

Os felídeos e canídeos foram classificados consoante a sua raça. Canídeos sem raça pura receberam a designação “sem raça definida” (SRD). Os felídeos na mesma situação foram classificados como “domésticos”.

Doenças concomitantes

Qualquer alteração do estado de saúde do animal no momento da hospitalização na UICB ou presença de doença crónica.

Em 76,5% (13/17) dos cães e 69,3% (9/13) dos gatos, a infeção bacteriana multirresistente que forçou o paciente a ser internado na UICB era concomitante com outra condição clínica primária, por exemplo, um animal com Infeção do trato urinário (ITU) e com Doença renal crónica (DRC) e/ou Diabetes mellitus descompensada.

As doenças concomitantes foram agrupadas em 14 categorias: Doenças do trato respiratório; Doenças cardíacas; Doenças do trato gastrointestinal; Doenças hepáticas/pancreáticas; Doenças endócrinas; Doenças imunomediadas; Doenças oftalmológicas; Doenças ortopédicas/neurológicas; Doenças do aparelho reprodutor; Hemoparasitoses; Abscessos/feridas; Neoplasias; Doenças dermatológicas; Doenças do trato urinário.

Amostras biológicas

Foi recolhida uma amostra biológica por animal. As amostras foram agrupadas em 5 grupos: urina; pele/exsudados cutâneos; cerúmen; secreções nasais; aspirado de linfonodo; sendo que o último grupo apenas ocorreu num canídeo no linfonodo mesentérico.

Antibióticos prescritos

Foram investigados todos os antibióticos sistémicos prescritos nos 12 meses anteriores à realização das análises bacteriológicas.

Um animal pode fazer várias antibióterapias ao longo de um ano. Quando a antibióterapia foi interrompida durante uns dias e retomada com recurso ao mesmo antibiótico, contabilizámos duas tomas. Quando a antibióterapia foi prolongada na sequência de uma consulta de reavaliação, sem ter sido interrompida, foi contabilizada apenas uma vez.

Foram excluídos os dados de 1 cão e de 3 gatos por falta de informação sobre se tomou ou não antibióticos no ano correspondente.

Bactérias isoladas

Como apenas 80,0% das bactérias nos cães (16/20) e nos gatos (12/15) foram classificadas ao nível da espécie, agrupámos as bactérias para operacionalizar a análise de dados e simplificar a apresentação dos resultados.

Nos cães, as bactérias foram agrupadas em 5 grupos:

- *Escherichia coli* (inclui 2 isolados produtores de β lactamases de espectro alargado-ESBL)
- *Klebsiella* spp. (ambos isolados eram ESBL)
- *Proteus* spp. (inclui 1 isolado ESBL)
- *Staphylococcus pseudintermedius* e MRSP.

Nos gatos, as bactérias foram agrupadas em 6 grupos:

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae* (inclui 1 isolado ESBL)
- *Proteus* spp. (1 isolado *Proteus mirabilis* ESBL e 2 isolados *Proteus* sp.)
- *Enterobacter cloacae*
- MRSP (Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius*)
- *Enterococcus* spp. (1 isolado *Enterococcus* sp. e 1 isolado *Enterococcus faecium*).

Bactérias isoladas por tipo de infeção

As bactérias foram agrupadas consoante o tipo de infeção apresentada pelos animais: ITU; ferida/dermatite; otite externa; rinite; linfadenite.

Nos felídeos: em “*Proteus* spp.” foi identificado 1 isolado *Proteus mirabilis* ESBL num caso de ITU e dois isolados *Proteus* sp. em casos de feridas/dermatites; em “*Enterococcus* spp.” incluímos 1 isolado *Enterococcus faecium* identificado no único caso de otite externa e 1 isolado *Enterococcus* sp. identificado numa ferida/dermatite.

Suscetibilidade aos antibióticos

Todas as bactérias isoladas foram caracterizadas quanto ao seu perfil de resistência. O painel de antibióticos e o método variaram consoante o laboratório onde as análises foram processadas.

Para simplificar a apresentação dos resultados os seguintes antibióticos foram agrupados:

- aminoglicosídeos (amicacina, gentamicina, estreptomina, tobramicina)
- fluoroquinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacina, marbofloxacina)

- tetraciclina (tetraciclina, minociclina e doxiciclina)
- cefalosporina 1ª geração (cefalexina e cefalotina) e cefalosporina 3ª geração (ceftazidima, cefotaxima e cefoperazona).

“S” corresponde aos isolados suscetíveis, “I” aos isolados de suscetibilidade intermédia e “R” aos isolados resistentes.

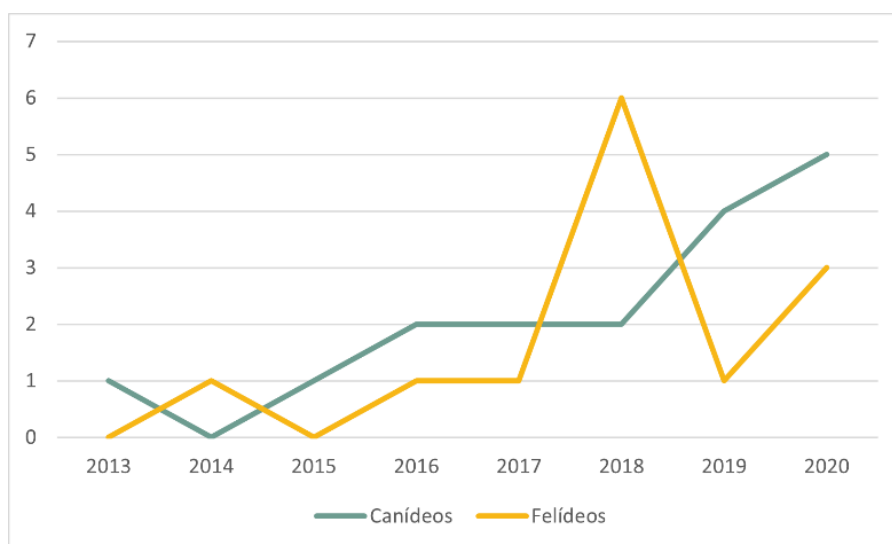
3. Resultados

3.1 Evolução anual dos pacientes internados na UICB com MDR

Nos felídeos, o ano 2018 registou um maior número de casos (N=6), seguido pelo ano 2020 (N=3). Os anos 2014, 2016, 2017 e 2019 registaram apenas 1 caso cada. Nos anos 2013 e 2015 não foram hospitalizados gatos com MDR (Gráfico 1).

Relativamente aos canídeos, o ano 2020 registou um maior número de casos (N=5), seguido pelo ano 2019 (N=4). Os anos 2016, 2017 e 2018 registaram o mesmo número de casos (N=2), e os anos 2013 e 2015 registaram apenas 1 caso cada um. No ano 2014 não houve hospitalizações de cães com MDR (Gráfico 1).

Gráfico 1- Evolução anual dos casos de MDR



Cães (n=17); Gatos (n=13)

3.2 Caracterização da população de animais com MDR internados na UICB

Foram recolhidos, processados e compilados, os dados clínicos dos animais internados com MDR na UICB no período de outubro de 2013 a outubro de 2020, totalizando 30 animais, dos quais 17 (56,7%) cães e 13 (43,3%) gatos.

3.2.1 Género

Dos 17 canídeos, 11 eram do género masculino (64,7%) e 6 do género feminino (35,3%). Seis (35,3%) eram castrados e 11 (64,7%) inteiros.

Dos 13 felídeos, 11 eram do género masculino (84,6%) e 2 do género feminino (15,4%). Doze (92,3%) eram castrados e 1 (7,7%) inteiros.

3.2.2 Idade

A mediana das idades dos canídeos foi de 11,0 ($10,4 \pm 3,4$) anos, sendo que o cão mais jovem tinha 2 anos e o mais velho 16 anos. Verificou-se maior proporção dos canídeos no escalão “ ≥ 10 e < 14 anos” (N=7, 41,2%), seguindo-se os cães nos escalões “ ≥ 7 e < 10 ” e “ ≥ 14 anos”, ambos com o mesmo valor (N=4, 23,5%) (Gráfico 2).

A mediana de idades dos felídeos foi 10,0 ($9,0 \pm 4,4$) anos, sendo que o felídeo mais jovem tinha 2 anos e o mais velho 16 anos. Constatou-se uma maior proporção de gatos no escalão “ ≥ 10 e < 14 anos” (N=6, 46,2%), seguido pelos felídeos no escalão “ ≥ 3 e < 7 ” (N=3, 23,1%) (Gráfico 3).

Gráfico 3- Distribuição etária dos canídeos (N=17)

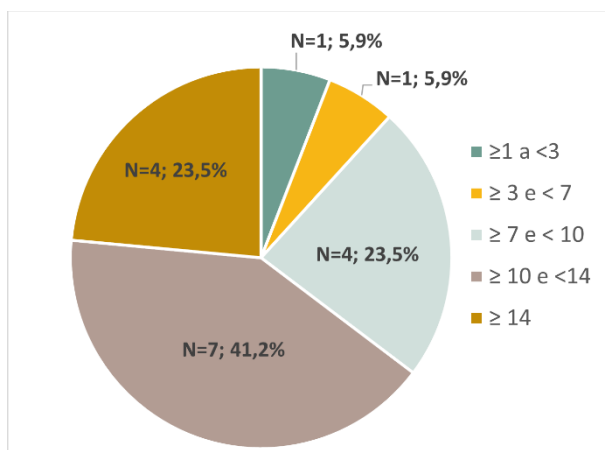
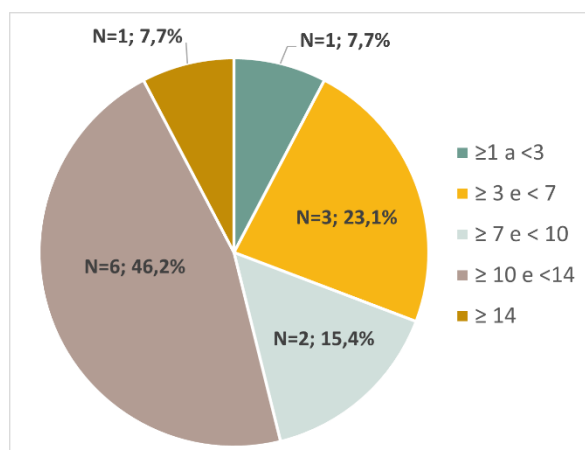


Gráfico 2- Distribuição etária dos felídeos (N=13)



3.2.3 Raça

Canídeos sem raça pura receberam a designação “Sem raça definida (SRD)”. Já os felídeos na mesma situação foram classificados como “Domésticos”.

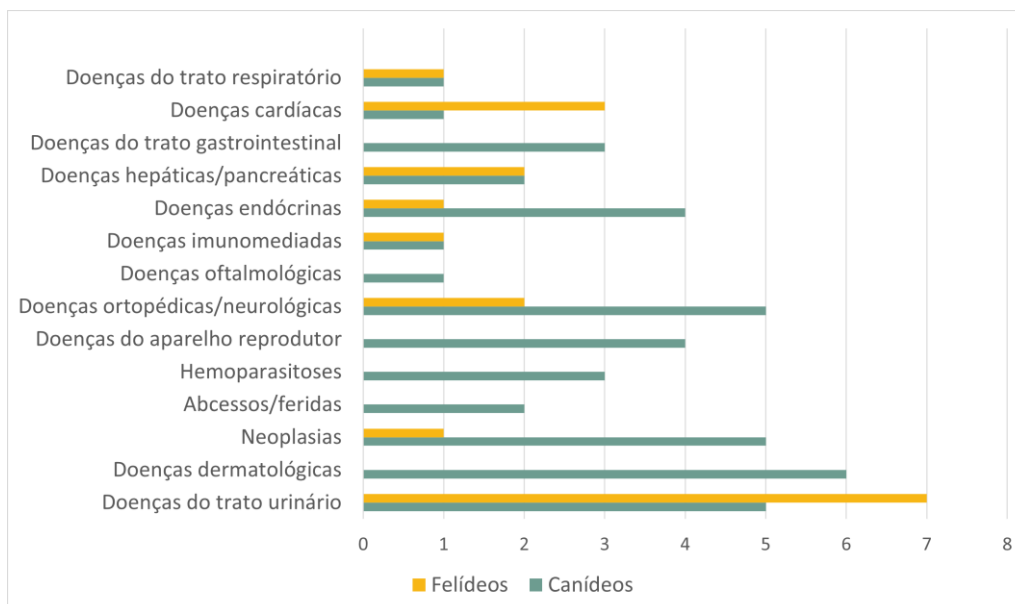
Nove gatos (69,2%) eram “Domésticos”, 3 Persas (23,1%) e 1 Scottish Fold (7,7%).

Quanto aos cães, 5 animais eram “SRD” (29,4%) e 12 eram de raça (70,6%). Cada canídeo pertencia a uma raça diferente: 1 (5,9%) Weimaraner, 1 (5,9%) Pastor Alemão, 1 (5,9%), Labrador Retriever, 1 (5,9%) Dálmatas, 1 (5,9%) Border Collie, 1 (5,9%), Pitbull, 1 (5,9%), Cocker Spaniel, 1 (5,9%), Yorkshire Terrier, 1 (5,9%), Buldogue Francês, 1 (5,9%), Rottweiler, 1 (5,9%), Malamute, 1 (5,9%) e Fila de São Miguel, 1 (5,9%).

3.2.4 Doenças concomitantes

Como pode ser visualizado no Gráfico 4, no momento da hospitalização, todos os animais apresentavam doenças concomitantes.

Gráfico 4- Frequência de doenças concomitantes nos canídeos e felídeos



Dos 17 canídeos, 14 (82,4%) apresentavam duas ou mais doenças concomitantes pertencentes a grupos distintos e 3 cães (17,6%) apresentavam apenas uma doença concomitante. As doenças concomitantes mais frequentes foram do foro dermatológico (N=6), ortopédico/neurológico (N=5), trato urinário (N=5) e neoplasias (N=5).

Relativamente aos 13 felídeos, 5 (38,5%) apresentavam duas doenças concomitantes pertencentes a grupos diferentes e 8 (61,5%) apresentavam apenas uma doença concomitante. As doenças do trato urinário (N=7) e cardíacas (N=3) foram as doenças concomitantes mais representadas nos gatos.

3.2.5 Historial de internamento e de consumo de antibióticos

Na Tabela 2 são apresentados três indicadores: i) frequência de internamento nos últimos 6 meses; ii) histórico de infeções crónicas ou recorrentes; iii) registo de consumo de antibióticos nos últimos 12 meses; as informações relativas ao historial clínico dos canídeos e dos felídeos, armazenadas nas fichas individuais dos pacientes, nos programas informáticos

de gestão de hospitais veterinários, Guruvet e Qvet, usados no HE durante o período de tempo investigado.

Reportamos na terceira coluna da Tabela 2 as frequências em que ou a resposta à questão era negativa, por exemplo o animal não esteve internado nos últimos 6 meses, ou não tinha histórico de infeções crónicas ou de episódios recorrentes, ou não tinha tomado antibióticos nos últimos 12 meses, ou então, não estava disponível informação.

Tabela 2- Historial clínico dos canídeos e felídeos

Internamento nos últimos 6 meses	Sim	Não/Desconhecido
Canídeos	9 (52,9%)	8 (47,1%)
Felídeos	11 (84,6%)	2 (15,4%)
Historial de infeções crónicas / recorrentes	Sim	Não/Desconhecido
Canídeos	16 (94,1%)	1 (5,9%)
Felídeos	8 (61,5%)	5 (38,5%)
Consumo de antibióticos nos últimos 12 meses	Sim	Não/Desconhecido
Canídeos	16 (94,1%)	1 (5,9%)
Felídeos	10 (76,9%)	3 (23,1%)

Relativamente ao historial clínico dos canídeos constatou-se que mais de metade dos cães (52,9%) tinham estado internados nos últimos seis meses, e que uma proporção muitíssimo elevada (94,1%) tinha um histórico de infeções crónicas ou recorrentes, e de toma de antibióticos nos últimos 12 meses.

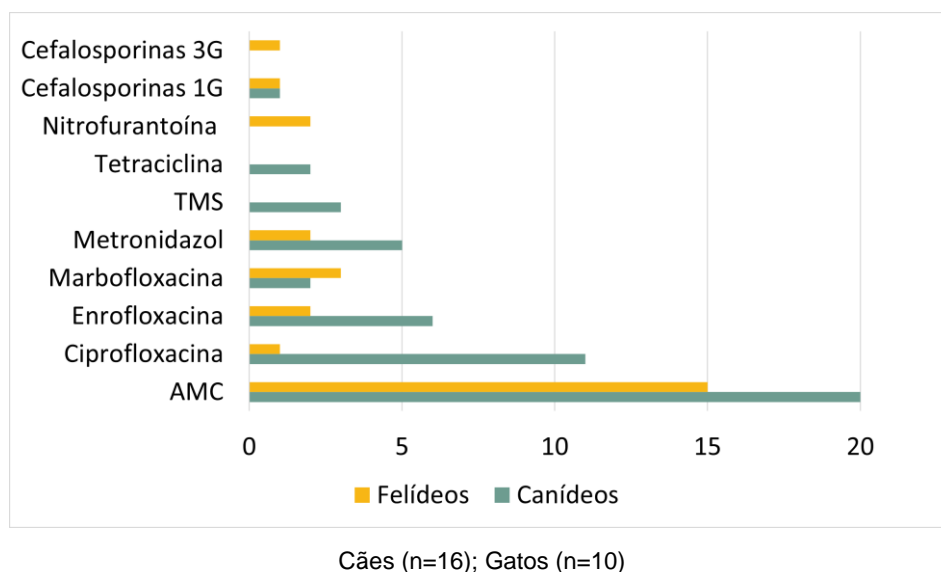
No caso dos felídeos, a proporção de gatos que tinham estado internados nos últimos seis meses é maior do que a dos cães (84,6%), mas essa diferença não é estatisticamente significativa ($p=0,07$; *Fisher Exact Test*). A proporção de gatos com histórico de infeções crónicas ou recorrentes (61,5%) é menor do que nos cães e a diferença é estatisticamente significativa (χ^2 Mantel-Haenszel=4,72; $p=0,04$ *Fisher Exact Test*). A frequência de tomas de antibióticos nos gatos nos últimos 12 meses (76,9%) também é menor do que nos cães, mas a diferença não é estatisticamente significativa ($p=0,20$ *Fisher Exact Test*).

3.2.6 Antibióticos prescritos

Nos cães, os antibióticos sistémicos prescritos com mais frequência nos 12 meses anteriores à realização das análises bacteriológicas foram a AMC (N=20; 40,0%), as fluoroquinolonas (N=19; 38,0%) e o metronidazol (N=5, 10,0%) (Gráfico 5).

Nos gatos liderou a AMC (N=15; 55,6%) e as fluoroquinolonas (N=6; 22,6%) (Gráfico 5).

Gráfico 5- Antibióticos prescritos nos canídeos e felídeos nos 12 meses prévios a detecção de MDR



A classe das fluoroquinolonas é constituída por ciprofloxacina, enrofloxacina e marbofloxacina.

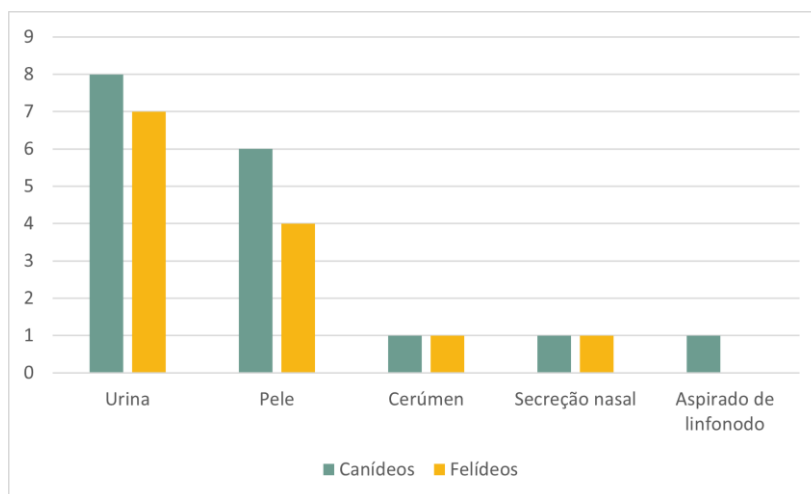
3.2.7 Caracterização das amostras biológicas recolhidas

Para cada animal foi apenas recolhida uma amostra: 17 amostras em canídeos; 13 amostras em felídeos. As amostras foram agrupadas em cinco tipos: urina; pele/exsudados cutâneos; cerúmen; secreções nasais; aspirado de linfonodos (gráfico 6).

Nos canídeos, 8 (47,1%) amostras foram de urina e 6 (35,3%) de pele/exsudados cutâneos. As restantes três amostras foram respetivamente de cerúmen (N=1; 5,9%), secreção nasal (N=1; 5,9%) e aspirado de linfonodo mesentérico (N=1; 5,9%).

Relativamente aos felídeos, 7 (53,8%) amostras foram de urina e 4 (30,8%) de pele/exsudados cutâneos. As restantes duas amostras foram de cerúmen (N=1; 7,7%) e de secreção nasal (N=1; 7,7%).

Gráfico 6- Tipo de amostras biológicas recolhidas nos canídeos e felídeos

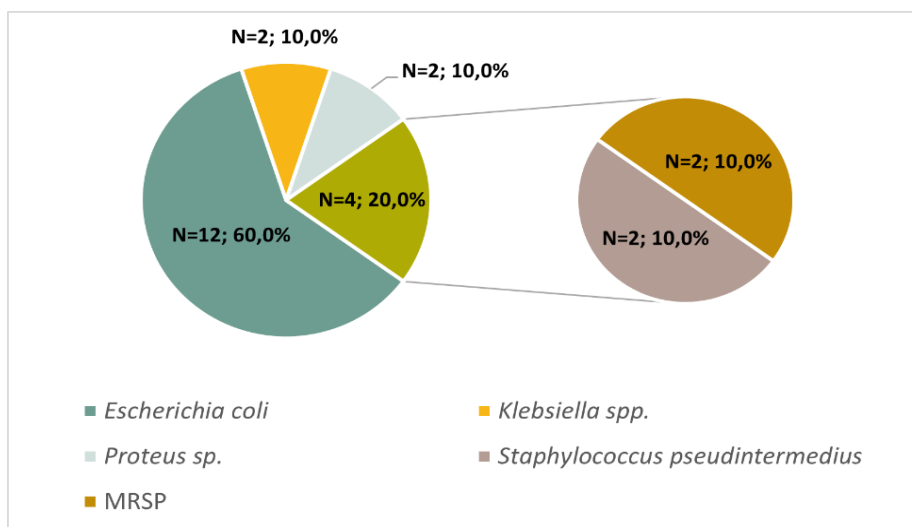


3.2.8 Bactérias multirresistentes isoladas

Das 17 amostras biológicas recolhidas de canídeos foram isolados 20 agentes multirresistentes. Numa amostra de pele/exsudado cutâneo foram isolados *Escherichia coli* ESBL e *Staphylococcus pseudintermedius*. Foram detetados dois isolados de *Escherichia coli* em duas amostras de urina, ou seja, cada amostra continha 2 isolados com perfis de suscetibilidade diferentes.

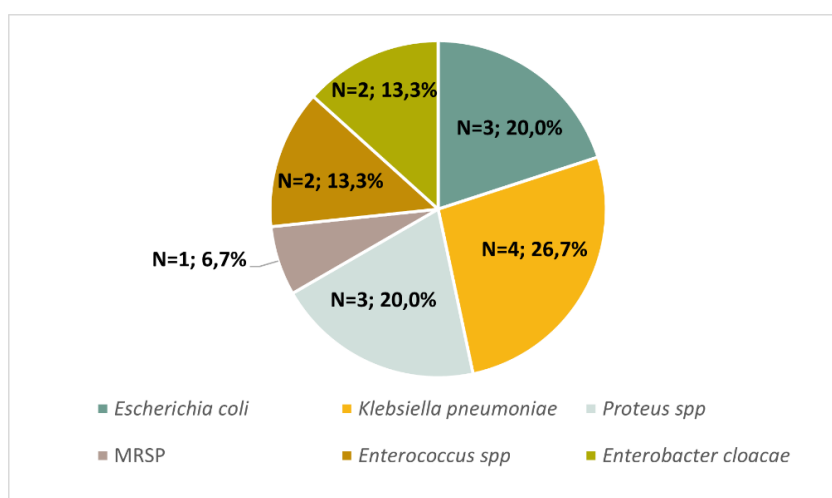
Escherichia coli foi a bactéria mais frequente (N=12; 60%), seguida por *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Staphylococcus pseudintermedius* e MRSP, com 10% cada (N=2) (Gráfico 7). *Escherichia coli* (N=12), *Klebsiella* spp. (N=2; 10%), *Proteus* spp. (N=2) pertencem à família *Enterobacteriaceae* e representaram 80% das bactérias multirresistentes isoladas em cães.

Gráfico 7- Bactérias isoladas nos canídeos (N=17)



Das 13 amostras recolhidas em gatos foram isolados 15 agentes multirresistentes. Numa das amostras de urina foram isoladas *Escherichia coli* e *Enterobacter cloacae*, e numa amostra de pele/exsudado cutâneo foram isolados *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus spp.* *Klebsiella pneumoniae* foi a bactéria mais frequente (N=4; 26,7%), seguida por *Escherichia coli* (N=3; 20%) e *Proteus spp.* (N=3; 20%). *Enterococcus spp.* e *Enterobacter cloacae* foram isolados em 2 (13,3%) casos e registou-se 1 (6,7%) isolado MRSP (Gráfico 8).

Gráfico 8- Bactérias isoladas nos felídeos (N=13)



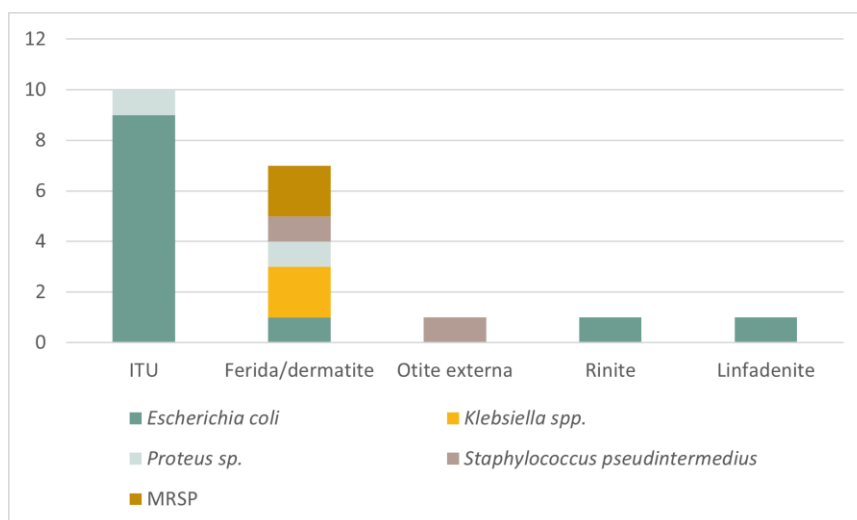
Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.* e *Enterobacter cloacae* pertencem à família *Enterobacteriaceae* e constituíram 80% das bactérias multirresistentes isoladas em gatos.

Observou-se, portanto, uma proporção de 80% de bactérias multirresistentes da família *Enterobacteriaceae* quer em cães quer em gatos.

3.2.8.1 Bactérias isoladas por tipo de infeção

Agrupámos o tipo de infeção apresentada pelos animais nos seguintes 5 grupos: ITU; ferida/dermatite; otite externa; rinite; linfadenite (observada apenas em cães). O Gráfico 9 reúne os microrganismos isolados nos canídeos, de acordo com o tipo de infeção.

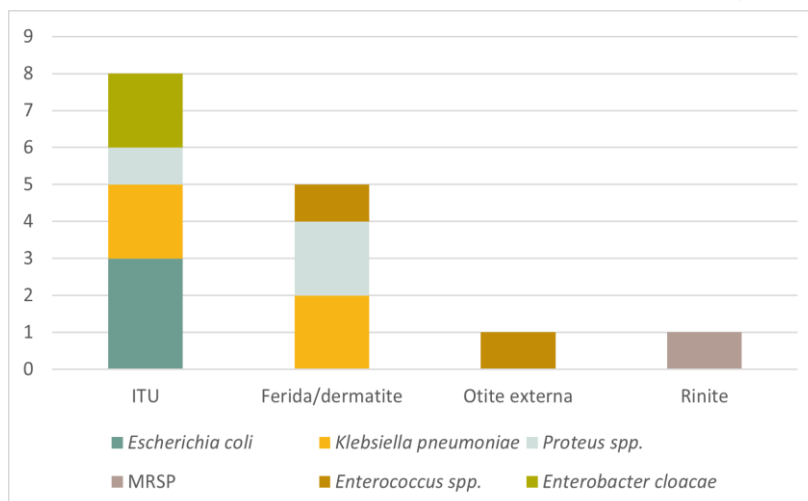
Gráfico 9- Bactérias isoladas nos canídeos por tipo de infecção (N=20)



- *Escherichia coli* (N=12): 9 isolados em casos de ITU; 1 isolado numa ferida/dermatite; 1 isolado no único caso de rinite; 1 isolado no único caso de linfadenite. Foram detetados dois isolados ESBL (1 em ITU e 1 em ferida/dermatite)
- *Klebsiella spp.* (N=2): ambos os isolados ESBL foram identificados em feridas/dermatite.
- *Proteus spp.* (N=2): inclui 1 isolado *Proteus spp.* ESBL identificado numa ferida/dermatite e 1 isolado identificado numa ITU.
- *Staphylococcus pseudintermedius* (N=2): 1 isolado identificado no único caso de otite externa e 1 isolado identificado numa ferida/dermatite.
- MRSP (N=2): ambos isolados em feridas/dermatites.

O Gráfico 10 agrega os microrganismos isolados nos felídeos, de acordo com o tipo de infecção.

Gráfico 10- Bactérias isoladas nos felídeos por tipo de infecção (N=15)



- *Klebsiella pneumoniae* (N=4): 2 isolados identificados em ITU. Os restantes foram detetados em feridas/dermatites, sendo um deles ESBL.
- *Escherichia coli* (N=3): todos isolados em ITU.
- *Proteus* spp. (N=3): 1 isolado ESBL identificado numa ITU e dois isolados identificados em feridas/dermatites.
- *Enterococcus* spp. (N=2): inclui 1 isolado identificado no único caso de otite externa e 1 isolado identificado numa ferida/dermatite.
- *Enterobacter cloacae* (N=2): ambos os isolados em ITU.
- MRSP (N=1): isolado no único caso de rinite.

3.2.9 Suscetibilidade aos antibióticos

Para facilitar a apresentação dos dados, e a sua leitura e análise, foram construídas oito tabelas que agregam os resultados das bactérias da família *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp. e *Enterobacter cloacae*), *Staphylococcaceae* (*Staphylococcus pseudintermedius* e *Staphylococcus pseudintermedius* metilino-resistente) e *Enterococcus* spp. Cada coluna das Tabelas 3 a 10 corresponde ao resultado do TSA de cada isolado. “S” designa os isolados suscetíveis, “I” os isolados de suscetibilidade intermédia, “R” os isolados resistentes. “-” indica que o isolado não foi testado para esse antibiótico.

3.2.9.1. *Enterobacteriaceae*

3.2.9.1.1 *Escherichia coli*

Os isolados de *Escherichia coli* referentes aos canídeos, numerados de 1 a 12 na Tabela 3, revelaram-se resistentes a vários antibióticos: AMC (11/12); ampicilina (12/12); tetraciclina (8/10); TMS (10/12). Na classe de fluoroquinolonas, 8 isolados apresentaram resistência a pelo menos 1 antibiótico. Na classe de aminoglicosídeos, 5 dos isolados apresentaram resistência a pelo menos 1 antibiótico. Os isolados 5 e 8 eram ESBL.

Os isolados de *Escherichia coli* em gatos estão identificados pelas letras A, B e C na Tabela 3, e foram resistentes aos seguintes antibióticos: AMC (2/3); ampicilina (3/3); cefalosporina 1ª geração (3/3); cefalosporina 3ª geração (2/3); fluoroquinolonas (3/3); aminoglicosídeos (3/3); TMS (3/3).

Tabela 3- Suscetibilidade dos isolados *Escherichia coli* aos antimicrobianos nos canídeos (N=12) e nos felídeos (N=3)

<i>Escherichia coli</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	A	B	C
AMC	R	I	R	R	R	I	I	R	R	R	R	R	I	R	R
Ampicilina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Cefalosporina 1ªG	R	I	R	R	R	R	I	R	I	R	I	I	R	R	R
Cefalosporina 3ªG	R	I	I	I	R	S	S	R	S	R	S	S	R	R	I
Fluoroquinolonas	R	S	R	R	R	I	S	R	R	R	R	I	R	R	R
Aminoglicosídeos	S	S	S	S	R	I	R	R	R	R	S	S	R	R	R
Tetraciclina	-	R	R	I	R	R	R	R	I	R	I	R	I	S	-
TMS	R	R	I	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Cloranfenicol	S	-	-	-	-	S	S	-	R	R	-	-	-	-	-
Nitrofurantoína	S	-	R	S	-	-	-	I	-	-	S	S	S	S	I

3.2.9.1.2 *Klebsiella* spp.

Os dois isolados de *Klebsiella* spp. detetados em cães, ambos ESBL, foram resistentes a vários antibióticos, apresentando nomeadamente 100% de resistência a AMC, tetraciclina, TMS, fluoroquinolonas e cefalosporina 3ª geração (Tabela 4).

Tabela 4- Suscetibilidade dos isolados *Klebsiella* spp. aos antimicrobianos nos canídeos (N=2)

<i>Klebsiella</i> spp.	Isolado nº1	Isolado nº2
AMC	R	R
Ampicilina	R	R
Cefalosporina 3ªG	R	R
Fluoroquinolonas	R	R
Aminoglicosídeos	S	R
Tetraciclina	R	R
TMS	R	R
Cloranfenicol	R	S
Fosfomicina	S	R

3.2.9.1.3 *Klebsiella Pneumoniae*

Os isolados de *Klebsiella pneumoniae* referentes aos felídeos foram resistentes às fluoroquinolonas (4/4), cefalosporinas 1ª geração (4/4), TMS (4/4), tetraciclina (4/4), AMC (3/4) e aminoglicosídeos (3/4) (Tabela 4). De notar que todos os isolados testados para cefalosporinas de 3ª geração apresentaram resistência (3/3). O isolado nº4 é ESBL.

Tabela 5- Suscetibilidade dos isolados *Klebsiella pneumoniae* aos antimicrobianos nos felídeos (N=4)

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Isolado nº1	Isolado nº2	Isolado nº3	Isolado nº4
AMC	I	R	R	R
Ampicilina	R	R	R	R
Cefalosporina 1ªG	R	R	R	R
Cefalosporina 3ªG	-	R	R	R
Fluoroquinolonas	R	R	R	R
Aminoglicosídeos	R	S	R	R
Tetraciclina	R	R	R	R
TMS	R	R	R	R
Nitrofurantoína	S	-	-	S
Cloranfenicol	S	I	-	S

3.2.9.1.4 *Proteus* spp.

Os dois isolados de *Proteus* spp. identificados em cães apresentaram resistência a cefalosporina 1ª geração, tetraciclina, TMS e aminoglicosídeos (Tabela 6). O isolado nº1 é ESBL.

Os três isolados de *Proteus* spp. confirmados nos felídeos A, B e C, foram todos resistentes à ampicilina, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, tetraciclina e TMS (Tabela 6). O isolado A é ESBL.

Tabela 6- Suscetibilidade dos isolados *Proteus* spp. aos antimicrobianos nos canídeos (nº1 e nº2) e felídeos (A, B, C) (N=5)

<i>Proteus</i> spp.	Isolado nº1	Isolado nº2	A	B	C
AMC	R	S	R	I	R
Ampicilina	R	S	R	R	R
Cefalosporina 1ªG	R	R	R	I	R
Cefalosporina 3ªG	I	S	R	S	R
Fluoroquinolonas	R	I	R	R	R
Aminoglicosídeos	R	R	R	R	R
Tetraciclina	R	R	R	R	R
TMS	R	R	R	R	R

3.2.9.1.5 *Enterobacter cloacae*

Os dois isolados de *Enterobacter cloacae* detetados em gatos revelaram-se resistentes às cefalosporinas de 3ª geração, tetraciclina, TMS e nitrofurantoína (Tabela 7). Lembramos que esta bactéria apresenta resistência intrínseca à AMC, ampicilina e às cefalosporinas de 1ª geração (Magiorakos et al., 2012).

Tabela 7- Suscetibilidade dos isolados *Enterobacter cloacae* nos felídeos aos antimicrobianos (N=2)

<i>Enterobacter cloacae</i>	Isolado 1	Isolado 2
AMC	R	R
Ampicilina	R	R
Cefalosporina 1ªG	R	R
Cefalosporina 3ªG	R	R
Fluoroquinolonas	I	I
Aminoglicosídeos	I	R
Tetraciclina	R	R
TMS	R	R
Nitrofurantoína	R	R

3.2.9.2. *Staphylococcaceae*

3.2.9.2.1 *Staphylococcus pseudintermedius*

Os dois isolados de *S. pseudintermedius*, ambos referentes a canídeos, foram resistentes à ampicilina, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, tetraciclina e TMS (Tabela 8).

Tabela 8- Suscetibilidade dos isolados *Staphylococcus pseudintermedius* aos antimicrobianos nos canídeos (N=2)

<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	Isolado nº1	Isolado nº2
AMC	S	I
Ampicilina	R	R
Ofloxacina	-	S
Cefalosporina 1ªG	R	I
Cefalosporina 3ªG	R	I
Fluoroquinolonas	R	R
Aminoglicosídeos	R	R
Tetraciclina	R	R
TMS	R	R
Clindamicina	R	-
Cloranfenicol	-	R

3.2.9.2.2 *Staphylococcus pseudintermedius* metilino-resistente (MRSP)

Os dois isolados de MRSP dos canídeos foram resistentes às fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, tetraciclina, TMS, clindamicina, eritromicina. O isolado do felídeo apresentou resistência aos mesmos antibióticos e ainda ao cloranfenicol (Tabela 9).

Tabela 9- Suscetibilidade dos isolados MRSP aos antimicrobianos nos canídeos (1 e 2) e no felídeo (A) (N=3)

MRSP	Isolado nº1	Isolado nº2	A
AMC	R	R	R
Ampicilina	R	R	R
Penicilina	R	R	R
Oxacilina	R	R	R
Fluoroquinolonas	R	R	R
Aminoglicosídeos	R	R	R
Tetraciclina	R	R	R
TMS	R	R	R
Ácido fusídico	S	S	-
Fosfomicina	S	S	S
Clindamicina	R	R	R
Eritromicina	R	R	R
Cloranfenicol	-	-	R

3.2.9.3. *Enterococcaceae*

3.2.9.3.1 *Enterococcus* spp.

Os dois isolados de *Enterococcus* spp. referentes aos felídeos foram resistentes à ampicilina, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e tetraciclina (Tabela 10). O isolado nº2 é *Enterococcus faecium*. *Enterococcus* spp. apresentam resistência intrínseca a β -lactâmicos (cefalosporinas e algumas penicilinas) e a baixos de níveis de aminoglicosídeos, TMS (resistência *in vivo*) e lincosamidas (Delgado, 2015).

Tabela 10- Suscetibilidade dos isolados *Enterococcus* spp. aos antimicrobianos nos felídeos (N=2)

<i>Enterococcus</i> spp.	Isolado nº1	Isolado nº2
AMC	R	R
Ampicilina	R	R
Ofloxacina	R	-
Cefalosporinas 1ªG	R	R
Cefalosporinas 3ªG	R	R
Fluoroquinolonas	R	R
Aminoglicosídeos	R	R
Tetraciclina	R	R
TMS	R	S
Clindamicina	S	-

4. Discussão

Antes de iniciarmos a discussão dos resultados obtidos, queremos fazer um comentário introdutório à multiplicidade de metodologias de detecção de multirresistentes a antibióticos (MDR) usadas em Medicina Veterinária e à limitação do critério de seleção de MDR usado neste estudo que condicionaram os resultados.

4.1. Multiplicidade de metodologias de detecção de MDR em Medicina Veterinária

Urge uniformizar as metodologias de detecção de infecções bacterianas multirresistentes em Medicina Veterinária. Diferentes definições de MDR são empregues na literatura científica para caracterizar os vários padrões de resistência, dificultando a comparação de dados entre diferentes países ou até mesmo entre laboratórios do mesmo país (Drees et al., 2014; Muller et al., 2015). Magiorakos et al. (2012) já opinavam há uma década atrás que o aumento da detecção de MDR em ambientes hospitalares e nas comunidades, impunha um consenso sobre a classificação de bactérias resistentes a múltiplos antibióticos. A definição de MDR proposta pelo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC), publicada em 2012, teve precisamente o objetivo de harmonizar os dados de vigilância epidemiológica com a criação de uma terminologia padronizada. Categorias antimicrobianas com significado epidemiológico foram definidas para as bactérias frequentemente associadas a infecções nosocomiais e propensas a adquirir multirresistências, como por exemplo *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* spp. e *Pseudomonas* spp.

As diferentes definições de multirresistência, usadas por diversas equipas de investigadores, causam variações consideráveis nas taxas de MDR publicadas, e estão diretamente relacionadas: i) com o número de classes necessárias para atingir a classificação; ii) com a escolha dessas classes; iii) com a seleção do painel de antibióticos a testar (Sweeney et al., 2018; Wolfensberger et al., 2019; Mackinnon et al., 2018). O painel de antibióticos tem uma influência crítica no cálculo das taxas de resistência, ou seja, quanto maior o número de antibióticos incluídos no painel, maior a probabilidade de um isolado ser considerado multirresistente, especialmente pela definição do ECDC (Wolfensberger et al., 2019). Esta situação foi detetada nos isolados de *Pseudomonas* spp. e *P. aeruginosa*, como mencionaremos posteriormente. O ECDC enfatiza a necessidade de testar um número adequado de agentes antimicrobianos para aplicar corretamente as definições de MDR (Magiorakos et al., 2012), mas nem sempre é possível, dadas as restrições financeiras dos clientes e dos laboratórios clínicos e de investigação, principalmente na área da medicina

veterinária, e para além disso, os fabricantes costumam pré-configurar o painel de antibióticos. Estas realidades conduzem a disparidades nas taxas de MDR publicadas e dificultam muito os estudos comparativos (Moodley et al., 2014; Marques et al., 2016). Esta situação foi verificada na elaboração desta dissertação, uma vez que o painel variou não só com o laboratório como também com o ano em que a amostra foi processada.

No nosso estudo, as amostras foram enviadas para 3 laboratórios diferentes. Dada a ausência de uma metodologia universal em medicina veterinária, cada laboratório aplicou os seus procedimentos (Guardabassi et al., 2017; Timofte et al., 2020; White et al., 2001). Os métodos mais frequentemente utilizados são os da microdiluição com a determinação da concentração mínima inibitória (CIM) e da difusão em disco de Kirby-Bauer. Os laboratórios seguem normalmente normas padrão, como as publicadas pelo *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) ou, menos comum, recomendações elaboradas por agências nacionais (White et al., 2001; Timofte et al., 2020). Esta abordagem é suficiente para responder às necessidades clínicas e os resultados obtidos são capazes de detetar alterações nos padrões de suscetibilidade locais. Todavia, o uso de diferentes métodos de TSA e de diferentes *breakpoints* clínicos criam grandes limitações na comparação dos níveis de resistência entre os diversos laboratórios do mesmo país e entre diferentes países, comprometendo a vigilância da resistência antimicrobiana à escala global (Marques et al., 2016; White et al., 2001; Moodley et al., 2014). Assim, é prioritária a harmonização dos métodos e dos critérios interpretativos na medicina veterinária. O *Veterinary Committee on Antimicrobial Susceptibility* (VetCAST), criado em 2015, tem um importante papel a desempenhar neste processo (Marques et al., 2016; Timofte et al., 2020; White et al., 2001; Moodley et al., 2014).

4.2. Limitação do critério de seleção dos casos MDR

Ao longo do horizonte temporal do estudo retrospectivo (7 anos) foram hospitalizados na UICB, 30 animais com MDR confirmadas. Durante a seleção dos casos, ocorreram duas situações que podem ter levado à subdetecção de MDR:

1. Alguns animais não tinham as análises bacteriológicas anexadas às fichas clínicas e, portanto, não foi possível confirmar se as infeções eram ou não multirresistentes. Foram excluídos do estudo. Isto ocorreu sobretudo em 2013-2014, início de atividade da UICB;
2. A adoção nesta investigação da definição de MDR de Magiorakos et al. (2012) revê como consequência que nenhuma das infeções causadas por *Pseudomonas* spp. ou por *Pseudomonas aeruginosa* foram consideradas MDR, apesar de apresentarem elevados níveis de resistência aos antibióticos testados. Das várias classes testadas nos TSA, geralmente só três podiam cumprir a definição de MDR: aminoglicosídeos; cefalosporinas

como ceftazidime; fluoroquinolonas. Os restantes antibióticos testados eram normalmente ampicilina, AMC, cefalosporinas de 1ª e 2ª geração, tetraciclina, cloranfenicol e TMS, às quais *Pseudomonas* spp. são intrinsecamente resistentes (Lupo et al., 2018). Por essa razão, não foram contabilizadas na definição de MDR (resistente a pelo menos 1 antibiótico em 3 ou mais categorias antimicrobianas). Caso tivessem sido testados outros antibióticos indicados por Magiorakos et al. (2012), como por exemplo, imipeneme, piperaciclina/tazobactam ou aztreoname, seria provável que as *Pseudomonas* spp. isoladas fossem MDR.

4.3. Caracterização da população de estudo

4.3.1. Espécie, género e estado reprodutivo

Os casos de MDR foram detetados quer em cães (56,7%) quer em gatos (43,3%). Em ambas as espécies predominou o sexo masculino, atingindo proporções de 64,7% e 84,6%, respetivamente. À exceção de um macho, todos os felídeos estavam castrados, enquanto nos canídeos, a proporção foi apenas de 35,3%. Na revisão bibliográfica realizada não encontrámos evidência científica de que o sexo ou o estado reprodutivo possam ser fatores de risco do desenvolvimento de MDR no cão e no gato. Porém, alguns estudos de medicina humana, sugerem que os homens (principalmente idosos) com ITU possam apresentar um maior risco de infeção multirresistente, nomeadamente por *Enterobacteriaceae* produtora de beta-lactamases de espectro alargado (ESBL) quando comparados com as mulheres (Rodríguez-Baño et al., 2004; Ben-Ami et al., 2009; Briongos-Figuero et al., 2012).

4.3.2. Idade, presença de doenças concomitantes e tipo de amostra biológica

O acesso a cuidados de saúde primários permitiu aumentar a esperança de vida do cão e do gato, sendo comum o atendimento de pacientes geriátricos nas clínicas veterinárias (Marchetti et al., 2021). O envelhecimento está associado ao aparecimento de doenças crónicas e à diminuição da imunocompetência, deixando os animais vulneráveis ao desenvolvimento de infeções bacterianas e aumentando a necessidade do uso de antibióticos (Epstein et al., 2005; Da Costa et al., 2013). Esta realidade pode explicar parte dos resultados obtidos. De fato, constatámos um predomínio de animais seniores/geriátricos, tanto nos canídeos como nos felídeos. A faixa etária mais representada foi “≥10 e <14 anos”, com 41,2% no cão e 46,2% no gato. As medianas das idades foram de 11,0 anos nos canídeos e de 10,0 anos nos felídeos.

88,2% dos canídeos e 69,3% dos felídeos tinham idades superiores ou iguais a 7 anos, patamar etário a partir do qual tendem a surgir doenças relacionadas com a idade (Laflamme, 2005), o que contribui para compreender que todos os animais investigados apresentassem doenças concomitantes. Nos canídeos, as doenças dermatológicas (N=6), ortopédicas (N=5), urinárias (N=5) e neoplásicas (N=5) foram as mais frequentes. Nos felídeos destacaram-se as doenças urinárias (N=7) e cardíacas (N=3). Todas estas doenças estão associadas ao envelhecimento (Kaeberlein et al., 2016; Laflamme, 2005; Epstein et al., 2005).

As doenças concomitantes devem ser curadas, ou pelo menos controladas, de forma a mitigar falhas terapêuticas e possíveis reinfecções (Johnstone, 2020). No presente estudo, 94,1% dos canídeos e 61,5% dos felídeos apresentavam infeções crónicas ou recorrentes. Esta diferença é estatisticamente significativa (χ^2 Mantel-Haenszel=4,72; $p=0,04$ Fisher Exact Test), o que indicia o agravamento ou descompensação das doenças, ou deficientes abordagens terapêuticas, especialmente nos cães. Saputra et al. (2017) concluíram que a doença pré-existente e o uso prévio de antimicrobianos, em cães e gatos na Austrália, foram os principais fatores de risco associados à ITU por *Escherichia coli* multirresistente. Cães e gatos com ITU crónica tratados anteriormente com antibióticos tiveram respetivamente 8 e 6 vezes mais probabilidade de serem infetados por *Escherichia coli* multirresistente, quando comparados com os cães e gatos sem ITU crónica e sem historial de terapêutica antimicrobiana. A amostra biológica mais recolhida e processada laboratorialmente foi a urina com proporções de 47,1% nos canídeos e de 53,8% nos felídeos. ITU era frequentemente diagnosticada em cães e considerada rara em gatos (Thompson et al., 2011), mas dados recentes contradizem esta afirmação. Nos gatos, são diagnosticadas maioritariamente em pacientes com idade superior a 10 anos e com doenças concomitantes, como por exemplo, doença renal crónica (DRC) e doenças endócrinas (diabetes mellitus e hipertireoidismo) (Dorsch et al., 2019; Mayer-Roenne et al., 2007; Marques et al., 2016; Hernandez et al., 2014). No presente estudo, dos 7 gatos com ITU, 5 (71,4%) apresentavam DRC e 1 (14,3%) diabetes mellitus. Segundo Johnstone (2020), as infeções urinárias multirresistentes afetam principalmente cães e gatos idosos com doenças concomitantes ou com implantes urinários (cateter vesical, stent ureteral ou bypass ureteral subcutâneo) que reduzem a capacidade de defesa, e predispõem à entrada e persistência de bactérias.

4.3.3. Antibióticos prescritos

Os antibióticos mais prescritos nos 12 meses anteriores à recolha das amostras biológicas foram AMC e fluoroquinolonas em ambas as espécies. AMC correspondeu a 40,0% nos canídeos e 55,6% nos felídeos, enquanto a classe fluoroquinolonas atingiu proporções

de 38,0% nos canídeos e de 22,6% nos felídeos. Recordamos que de acordo com WHO (2019), estes antibióticos são criticamente importantes para uso na medicina humana.

Diversos estudos reportam o uso de AMC e fluoroquinolonas nos animais de companhia, associado frequentemente à terapêutica empírica de doenças infecciosas, implementada pelos médicos veterinários (Correia et al., 2017; Norris et al., 2019; Escher et al., 2011; Murphy et al., 2012; Joosten et al., 2020; Mateus et al., 2011; Couto et al., 2016). AMC e fluoroquinolonas são antibióticos de largo espectro relativamente seguros e pouco dispendiosos, particularmente a amoxicilina-ácido clavulânico (Wayne et al., 2011; Marchetti et al., 2021). Apesar de no presente estudo, só ter sido registado o seu uso, uma vez no cão e duas vezes em gatos, as cefalosporinas também são prescritas com regularidade nos animais de companhia (Schmidt et al., 2018). Sobretudo a cefovecina, uma cefalosporina de 3ª geração de ação prolongada, administrada em gatos (Singleton et al. 2017; Buckland et al. 2016; Murphy et al., 2012). A *compliance* dos detentores dos animais é fundamental no sucesso terapêutico, e a escolha do medicamento e da via de administração devem ser sempre adaptadas a cada caso. Buckland et al. (2016) detetaram que a prescrição de antibióticos criticamente importantes para a medicina humana atingia 60% dos antibióticos usados nos cães e 81% nos gatos, num universo de 374 clínicas veterinárias do Reino Unido. Para além da AMC, fluoroquinolonas, cefalosporinas de 3ª e 4ª geração, serem prescritas com regularidade, apenas uma pequena proporção destes antibióticos é seleccionada com recurso aos resultados de exames bacteriológicos e TSA (Pleydell et al., 2012; Valiakos et al., 2020; Nigg et al., 2019). Num inquérito epidemiológico, de âmbito nacional, realizado nos hospitais e clínicas veterinárias da Bélgica, Van Cleven et al. (2018) quantificaram esta proporção em apenas 12,4%. O custo das análises bacteriológicas permanece como uma das principais limitações à realização de exames bacteriológicos e do TSA (Norris et al., 2019).

4.3.4. Consumo de antibióticos e internamentos prévios

Outro fator importante que favorece o aparecimento de bactérias multirresistentes, é o uso prévio de antibióticos no paciente ou a exposição ambiental. Nomeadamente, o uso indiscriminado de antibióticos de largo espectro como os β -lactâmicos e as fluoroquinolonas, tem sido associado à colonização fecal ou a infeções por MDR nos animais de companhia (Johnstone, 2020; Tuerena et al., 2016; Loncaric et al., 2020; Dazio et al., 2021; Gibson et al., 2008).

No presente estudo, 94,1% dos canídeos e 76,9% dos felídeos tinham história de exposição a antibióticos no último ano, o que pode ter contribuído para o isolamento de MDR nestes animais. A diferença de tomas de antibiótico no cão e no gato não é estatisticamente

significativa ($p=0,20$ *Fisher Exact Test*). Weese et al. (2012) identificaram o uso de antibióticos no mês anterior à colheita das amostras biológicas, como fator de risco para o desenvolvimento de infecção por MRSP, em 56 cães hospitalizados. Hernandez et al. (2014) concluíram que a prescrição de antibióticos nos três meses anteriores à colheita das amostras biológicas foi um fator de risco para o desenvolvimento de ITU por *Escherichia coli* multirresistente em gatos.

O ambiente hospitalar veterinário favorece a seleção e a transmissão de MDR, não só pelo elevado consumo de antibióticos anteriormente referido, mas também pela elevada densidade de pacientes suscetíveis, principalmente cachorros e gatinhos, geriátricos e animais imunodeprimidos. Durante a hospitalização, os animais podem tornar-se portadores assintomáticos de MDR ou desenvolver infecções nosocomiais que ameacem a sua vida (Prescott et al., 2002; Nigg et al., 2019; Dazio et al., 2021). No presente estudo, 52,9% dos cães e 84,6% dos gatos estiveram internados, pelo menos uma vez, nos seis meses anteriores à detecção de MDR. Essa diferença não é estatisticamente significativa ($p=0,07$; *Fisher Exact Test*), mas o reduzido tamanho da amostra investigada pode ter condicionado este resultado que deve ser analisado com precaução. Gibson et al. (2008) identificaram como potenciais fatores de risco de MDR extraintestinal em cães hospitalizados, a presença de doença subjacente grave, hospitalização prolongada, intervenção cirúrgica e tratamento antimicrobiano prévio com β -lactâmicos ou fluoroquinolonas. Dazio et al. (2021) colheram zaragatoas oronasais e fecais de cães e gatos aquando da sua admissão em hospitais veterinários na Suíça e depois na alta clínica. A prevalência de animais portadores de MDR na admissão foi de 15,5%. A bactéria mais isolada (34%) foi *Escherichia coli* resistente a cefalosporinas de 3ª geração. A aquisição de MDR durante o internamento ocorreu em 1/3 dos cães e gatos. *Escherichia coli* ESBL (17,3%) e *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase (13,7%) foram os isolados mais frequentes. Estes resultados são preocupantes, uma vez que a colonização contínua destes pacientes pode contribuir para a disseminação de MDR na comunidade, o que representa um sério risco para Saúde Pública e Animal.

4.3.5 Bactérias multirresistentes isoladas

As infeções multirresistentes nos animais de companhia são um desafio terapêutico complexo (Prescott et al., 2002; Hartantyo et al., 2018; Marques et al., 2016; Marchetti et al., 2021) e um problema que para a sua mitigação exige um enfoque de Uma Só Saúde. A WHO divulgou, em 2017, a lista das 12 famílias de bactérias que representam a maior ameaça para a Saúde Pública. A lista foi elaborada numa tentativa de promover o uso racional de

antibióticos e de incentivar a pesquisa e o desenvolvimento de novos antibióticos, para enfrentar a crescente resistência global aos antimicrobianos. A lista está subdividida em três categorias: prioridade crítica; alta; média. A família *Enterobacteriaceae* foi classificada como “prioridade crítica” e o isolado *Enterococcus faecium* como “prioridade elevada” (WHO, 2017). Isto é preocupante, uma vez que a crescente proximidade entre detentores e os seus animais de companhia pode potenciar a transmissão interespecies de genes de resistência e de bactérias multirresistentes (Kaspar et al., 2018; Wieler et al., 2011; Walther et al., 2012; Marchetti et al., 2021; Pomba et al., 2017), especialmente por microrganismos que colonizam a pele ou a superfície das mucosas, pois podem ser facilmente transmitidos por contacto direto ou ambiental (Walther et al., 2012; Marchetti et al., 2021).

Hartantyo et al. (2018) analisaram os resultados de exames bacteriológicos e TSA de animais doentes acompanhados numa clínica veterinária em Singapura entre 2014 e 2016. Determinaram que 45,0% das bactérias apresentavam multirresistência e 18,0% eram produtoras de ESBL. *Staphylococcus pseudintermedius* (75,0%), *Klebsiella pneumoniae* (50,0%) e *Escherichia coli* (57,0%) eram MDR.

4.3.6 *Enterobacteriaceae*

No presente estudo, a família *Enterobacteriaceae* registou a maior frequência (80,0%) de MDR, em ambas as espécies animais investigadas: canídeos (N=16); felídeos (N=12). Apesar de ser constituída por bactérias comensais do trato gastrointestinal dos mamíferos, são responsáveis por diversos tipos de infeções, destacando as ITU, infeções da pele e dos tecidos moles, infeções respiratórias e otites (Zogg et al., 2018; Pomba et al., 2017). Nos animais estudados retrospectivamente foram registados sobretudo ITU e feridas/dermatites. *Escherichia coli* foi a bactéria mais frequente no cão (N=12, 60%). Segundo diversos autores está frequentemente associada a ITU (Marques et al., 2016; Lund et al., 2015; Hernandez et al., 2014; Loncaric et al., 2020). Esta associação repetiu-se no presente estudo, dado que dos 12 isolados de *Escherichia coli* detetados nos cães, 9 deles foram confirmados nas amostras de urina daqueles animais com ITU. Relativamente aos gatos, os 3 e únicos isolados de *Escherichia coli* foram detetados nos animais com ITU. Um estudo multicêntrico realizado a nível europeu determinou que a multirresistência por *Escherichia coli* predominou nos países do Sul da Europa (Espanha, Itália e Portugal) e por *Proteus* spp. em Portugal. Reportou ainda uma assinalável desigualdade de resistência antimicrobiana entre os países do Norte e do Sul da Europa (Marques et al., 2016).

A multirresistência na classe *Enterobacteriaceae* está muitas vezes associada à produção de enzimas de largo espectro ESBL. Os genes ESBL coexistem frequentemente com outros

genes de resistência no mesmo plasmídeo, resultando na resistência a múltiplas classes antimicrobianas (Tuerena et al., 2016). As bactérias *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* e *Proteus* spp. são as principais responsáveis pela produção destas enzimas (Marchetti et al., 2021; Tuerena et al., 2016). No presente estudo foram detetadas 5 ESBL em canídeos (2 *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella* spp. e 1 *Proteus* spp.) e 2 ESBL nos felídeos (*Klebsiella pneumoniae* e *Proteus* spp.). Para além da resistência aos β -lactâmicos, apresentam muitas vezes co-resistência aos aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, tetraciclina e TMS (Zogg et al., 2018). No presente estudo, os 7 isolados ESBL foram resistentes a estas classes de antibióticos, exceto dois casos: 1 apresentou suscetibilidade aos aminoglicosídeos; 1 exibiu suscetibilidade ao TMS. As restantes bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* também apresentaram elevados níveis de resistências a estes antibióticos.

4.3.7 *Staphylococcus pseudintermedius* e MRSP

Quatro cães estavam infetados com *Staphylococcus pseudintermedius*, destacando-se 2 isolados de MRSP.

S. pseudintermedius integra a microbiota normal da pele e das mucosas dos cães e gatos. Como agente patogénico oportunista causa principalmente piodermatites nos cães, mas também está associado a infeções urinárias e a otites. Pode infetar gatos, embora seja pouco frequente (Weese & van Duijkeren, 2010; Windahl et al., 2016; Pomba et al., 2017; Pomba et al., 2010). Os dados obtidos no presente estudo são concordantes com esta evidência científica pois os isolados de *S. pseudintermedius* foram obtidos em amostras de pele/exsudados cutâneos e no único caso de otite nos canídeos. Nos felídeos, *S. pseudintermedius* foi detetado apenas uma vez, num caso de rinite. Esse gato tinha doença do trato respiratório superior (DTRSF) crónica e a bactéria MRSP foi isolada de corrimento nasal. O tratamento antimicrobiano nestes gatos pode aliviar os sinais clínicos, mas continuarão predispostos a infeções bacterianas oportunistas e o recurso sucessivo aos antibióticos é um potencial risco na seleção de MDR. Como tal, é legítimo limitar a administração de antibióticos às situações absolutamente necessárias (Hernandez et al., 2014).

De acordo com Lappin et al. (2017), os resultados de exames bacteriológicos da cavidade nasal são difíceis de interpretar, uma vez que se podem obter culturas positivas de animais saudáveis. Bactérias multirresistentes, como MRSP, podem colonizar e desenvolver-se nesse local, sem causar infeção/doença nem a necessidade de antibioterapia.

Há fortes associações entre infeções por MRSP e hospitalizações prévias, consultas veterinárias frequentes e pacientes com doença cutânea crónica (Nienhoff et al., 2011a;

Nienhoff et al., 2011b; Lehner et al., 2014). Os isolados MRSP são reconhecidos como um grave problema de Saúde Pública e Animal por apresentarem frequentemente um elevado número de co-resistências que restringem as opções terapêuticas viáveis (Moodley et al., 2014; Weese et al., 2015; Pomba et al., 2010). Além da resistência aos β -lactâmicos, podem apresentar resistência a várias classes como aminoglicosídeos, macrólidos, lincosamidas, tetraciclina, TMS, fluoroquinolonas e cloranfenicol (Perreten et al., 2010; Ruscher et al., 2010). Os isolados do presente estudo apresentaram um padrão de multirresistência similar. Contrariamente ao *Staphylococcus pseudintermedius*, o *Staphylococcus aureus* não é uma típica bactéria comensal nos animais de companhia. Os isolados de MRSA que circulam nos cães e gatos pertencem principalmente a clones nosocomiais frequentemente identificados nos humanos (Morgan, 2008). Esta evidência indicia que os isolados de MRSA nos animais de companhia sejam transmitidos dos humanos para os animais e que, estes últimos funcionem como um reservatório para uma possível re(colonização) e infecção (Hartantyo et al., 2018; Kaspar et al., 2018; Morgan, 2008). Num estudo realizado na Polónia, Bierowiec et al. (2016) demonstraram que a prevalência de MRSA era significativamente superior nos gatos de apartamento (10,2%) do que nos gatos errantes (1,4%), correlacionando o contacto próximo com humanos com o elevado risco de colonização e aquisição de determinantes de resistência.

4.3.8 *Enterococcus* spp.

Os *Enterococcus* são geralmente considerados microrganismos comensais de baixa virulência, mas capazes de causar infecções graves em indivíduos imunodeprimidos, nomeadamente septicémias (Stull & Weese, 2015; Pomba et al., 2017). Também são responsáveis por ITU, infecções de feridas cirúrgicas e endocardites (Daniel et al., 2015; Torres et al., 2018). *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* são as principais espécies envolvidas nas infecções nosocomiais em humanos (Stull & Weese, 2015; Pomba et al., 2017). No presente estudo, os enterococci foram apenas isolados de uma otite e de uma ferida em dois gatos. Na otite, a espécie isolada foi *Enterococcus faecium*.

Além de possuírem um largo espectro de resistências intrínsecas, os enterococci têm a capacidade de através da transferência de transposões e plasmídeos, mutações e trocas cromossómicas, adquirir resistência a antibióticos para os quais não são intrinsecamente resistentes (Torres et al., 2018). Por isso, apresentam frequentemente resistência aos antibióticos, como ampicilina, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e tetraciclina, o que se constatámos no presente estudo nos dois isolados.

Para além do seu impacto como microrganismo nosocomial, as estirpes de enterococci multirresistentes podem ainda servir como reservatórios de genes de resistência para outras espécies microbianas mais patogénicas, o que representa um importante risco para a Saúde Pública e Animal (Stull & Weese, 2015; Torres et al., 2018; Miller et al., 2014).

As infeções multirresistentes estão associadas a prognósticos reservados, especialmente nos animais com doença crónica grave. São frequentemente resistentes a todos os antibióticos convencionais autorizados em Medicina Veterinária, forçando a necessidade de recorrer a antibióticos “off-label”. Esta situação levanta importantes questões éticas e morais, pois estes antibióticos estão reservados para o tratamento de infeções graves nos humanos e o seu uso nos animais de companhia pode comprometer a sua eficácia futura (Pomba et al., 2010; Weese et al., 2015). Os detentores de animais criticamente doentes acabam muitas vezes por autorizar a eutanásia dos seus animais por diversos motivos, dos quais destacamos a fraca resposta às terapêuticas administradas, a perda de qualidade de vida do animal - associada ou não às doenças subjacentes -, e limitações financeiras (Prescott et al., 2002; Weese et al., 2015). Este desfecho também se verificou no presente estudo, dado que 47,1% (8/17) dos cães e 30,8% (4/13) dos gatos foram eutanasiados durante o internamento e 22,2% (2/9) dos cães e 12,5% (1/8) dos gatos pouco tempo após a alta clínica. Um gato faleceu durante o internamento devido ao desenvolvimento de sépsis.

Por fim, queremos ressaltar que este estudo pelo seu carácter retrospectivo e pelo reduzido número de animais investigado apresenta diversas limitações, já discutidas. Os dados recolhidos circunscreveram-se às informações contidas nas fichas clínicas dos animais, que podem conter erros, por exemplo de digitação no sistema informativo, ou estar incompletas ou mesmo ausentes, como constatámos nalgumas situações. A interpretação dos resultados relativamente ao perfil de multirresistência também foi complicada porque nem todos os isolados bacterianos foram testados pelo mesmo método nem para os mesmos antibióticos.

5. Conclusão

Este estudo contribuiu para caracterizar a população de cães e gatos com infeções multirresistentes diagnosticadas na Unidade de Isolamento e Contenção Biológica do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, no período de outubro de 2013 a outubro de 2020.

A motivação para a sua realização derivou do fato de a multirresistência aos antimicrobianos estar também associada às infeções nosocomiais, e por isso, ser fundamental que os Centros de Atendimento Médico-Veterinário implementem programas de prevenção e controlo de infeções e de resistência aos antimicrobianos adaptados à sua missão e instalações. A UICB tem um manual de procedimentos padrão que é escrupulosamente cumprido, todos os profissionais de saúde, funcionários e estudantes são treinados previamente a acederem à unidade quer na utilização de equipamentos de proteção individual quer nas rotinas de mitigação do risco de disseminação de infeção, como por exemplo de desinfeção de superfícies e de monitorização da eficácia dos biocidas usados. Pretende-se numa lógica de Uma Só Saúde, conter agentes infecciosos, alguns zoonóticos, curar animais devolvendo-lhes saúde e bem-estar, e salvaguardar a segurança na aprendizagem dos estudantes e no trabalho dos profissionais de saúde e funcionários da UICB.

Identificou-se um perfil de risco constituído sobretudo por animais seniores, com doença concomitante grave, infeção crónica ou recorrente, historial recente de internamento e de consumo de antibióticos de largo espectro.

As infeções multirresistentes são cada vez mais frequentes nos animais de companhia e constituem uma causa importante de morbilidade e de mortalidade, associada parcialmente à escassez de antibióticos eficazes. Este cenário epidemiológico exige uma utilização prudente e direcionada dos antibióticos, alicerçada na realização de exames bacteriológicos e de testes de sensibilidade aos antibióticos, por rotina, para determinar o plano terapêutico que mais se adequa em cada caso.

O presente estudo também reforça a necessidade de investigar a causa subjacente à infeção e tratá-la, de modo a prevenir recidivas e o uso recorrente de antibióticos.

Finalmente, é preciso intensificar a transferência de conhecimento e a sensibilização de todos os agentes envolvidos para a problemática das resistências aos antimicrobianos porque esta ameaça decorre numa fase em que os detentores se relacionam com os animais de companhia como família, interagindo com eles diariamente na mesma habitação, viajando e, nalguns casos, deslocando-se com eles para o local de trabalho. Este estilo de vida potencia a troca de bactérias multirresistentes e representa um risco para a Saúde Pública e Animal. O Dia Europeu dos Antibióticos e a Semana Mundial dos Antibióticos são oportunidades

privilegiadas para promover a utilização correta destes medicamentos, como responsabilidade coletiva para reduzir a resistência antimicrobiana global.

6. Bibliografia

- Amaro A, Correia I, Clemente L. 2019. Resistência aos antibióticos em bactérias com origem em animais da cadeia alimentar. *Veterinária atual*; [acedido em 15 nov 2021]. <https://www.veterinaria-atual.pt/destaques/resistencia-aos-antibioticos-em-bacterias-com-origem-em-animais-da-cadeia-alimentar/>
- Ambler RP. 1980. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 289:321–331. doi:10.1098/rstb.1980.0049
- Anderson ME, Weese JS. 2016. Self-reported hand hygiene perceptions and barriers among companion animal veterinary clinic personnel in Ontario, Canada. *Can Vet J.* 57(3):282–288.
- Andersson DI, Hughes D. 2017. Selection and Transmission of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Microbiol Spectr.* Jul;5(4). doi: 10.1128/microbiolspec.MTBP-0013-2016
- Asif M. 2017. Antimicrobial Agents. *J Anal Pharm Res* 4(3): 00104. doi: 10.15406/japlr.2017.04.00104
- Belas A, Salazar AS, Gama LT, Couto N, Pomba C. 2014. Risk factors for faecal colonisation with *Escherichia coli* producing extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in dogs. *Vet Rec.* 175(8). doi: 10.1136/vr.101978
- Belas A, Menezes J, Gama LT, Pomba C. 2020. Sharing of Clinically Important Antimicrobial Resistance Genes by Companion Animals and Their Human Household Members. *Microb Drug Resist.* 26(10):1174–1185. doi: 10.1089/mdr.2019.0380
- Ben-Ami R, Rodríguez-Baño J, Arslan H, Pitout JD, Quentin C, Calbo ES, Azap OK, Arpin C, Pascual A, Livermore DM, et al. 2009. A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in nonhospitalized patients. *Clin Infect Dis.* Sep 1;49(5):682–90. doi: 10.1086/604713
- Bennett PM. 2008. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *Br J Pharmacol.* Mar;153 Suppl 1(Suppl 1):S347–57. doi: 10.1038/sj.bjp.0707607.
- Bierowiec K, Płoneczka-Janeczko K, Rypuła K. 2016. Is the Colonisation of *Staphylococcus aureus* in Pets Associated with Their Close Contact with Owners? *PLoS One.* May 26;11(5):e0156052. doi: 10.1371/journal.pone.0156052
- Bradford PA. 2001 Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* 14(4):933–51. doi: 10.1128/CMR.14.4.933–951.2001
- Briongos-Figuero LS, Gómez-Traveso T, Bachiller-Luque P, Domínguez-Gil GM, Gómez-Nieto A, Palacios-Martín T, González-Sagrado M, Dueñas-Laita A, Pérez-Castrillón JL. 2012. Epidemiology, risk factors and comorbidity for urinary tract infections caused by extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing enterobacteria. *Int J Clin Pract.* 66(9):891–6. doi: 10.1111/j.1742-1241.2012.02991.x.
- Buckland EL, O'Neill D, Summers J, Mateus A, Church D, Redmond L, Brodbelt D. 2016. Characterisation of antimicrobial usage in cats and dogs attending UK primary care companion animal veterinary practices. *Vet Rec.* 179(19):489. doi: 10.1136/vr.103830
- Buckner MMC, Ciusa ML, Piddock LJV. 2018. Strategies to combat antimicrobial resistance: anti-plasmid and plasmid curing. *FEMS Microbiol Rev.* 42(6):781–804. doi: 10.1093/femsre/fuy031
- Bush K, Jacoby GA. 2010 Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob*

- Agents Chemother. 54(3):969-76. doi: 10.1128/AAC.01009-09
- Carvalho I, Alonso CA, Silva V, Pimenta P, Cunha R, Martins C, Igrejas G, Torres C, Poeta P. 2020. Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Healthy and Sick Dogs in Portugal. Microb Drug Resist. 26(6):709-715. doi: 10.1089/mdr.2019.0205
- Chen Y, Liu Z, Zhang Y, Zhang Z, Lei L, Xia Z. 2019. Increasing Prevalence of ESBL-Producing Multidrug Resistance *Escherichia coli* From Diseased Pets in Beijing, China From 2012 to 2017. Front Microbiol. 10:2852. doi: 10.3389/fmicb.2019.02852
- Christaki E, Marcou M, Tofarides A. 2020. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. J Mol Evol. 88(1):26-40. doi: 10.1007/s00239-019-09914-3
- Coates AR, Halls G, Hu Y. 2011. Novel classes of antibiotics or more of the same? Br J Pharmacol. 163(1):184-94. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01250.x
- Correia S, Poeta P, Hébraud M, Capelo JL, Igrejas G. 2017. Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand? J Med Microbiol. 66(5):551-559. doi: 10.1099/jmm.0.000475
- Couto N, Monchique C, Belas A, Marques C, Gama LT, Pomba C. 2016. Trends and molecular mechanisms of antimicrobial resistance in clinical staphylococci isolated from companion animals over a 16 year period. J Antimicrob Chemother. 71(6):1479-87. doi: 10.1093/jac/dkw029
- Da Costa PM, Loureiro L, Matos AJ. 2013. Transfer of multidrug-resistant bacteria between intermingled ecological niches: the interface between humans, animals and the environment. Int J Environ Res Public Health. 10(1):278-94. doi: 10.3390/ijerph10010278
- Dalfino L, Brienza N, Bruno F. 2019. Good antimicrobial practice: time to update the "Choosing wisely" top 5 list in Critical Care Medicine. Minerva Anesthesiol. 85(1):10-12. doi: 10.23736/S0375-9393.18.13259-7
- Daniel DS, Lee SM, Dykes GA, Rahman S. 2015. Public Health Risks of Multiple-Drug-Resistant Enterococcus spp. in Southeast Asia. Appl Environ Microbiol. 81(18):6090-7. doi: 10.1128/AEM.01741-15
- Dazio V, Nigg A, Schmidt JS, Brilhante M, Mauri N, Kuster SP, Brawand SG, Schüpbach-Regula G, Willi B, Endimiani A, Perreten V, Schuller S. 2021. Acquisition and carriage of multidrug-resistant organisms in dogs and cats presented to small animal practices and clinics in Switzerland. J Vet Intern Med. 35(2):970-979. doi: 10.1111/jvim.16038
- Delgado MPPF. 2015. Detecção de alto nível de resistência a aminoglicosídeos em estirpes clínicas de enterococci. [dissertação de mestrado]. Lisboa: FMV-Universidade de Lisboa
- Direção Geral da Saúde. 2019. Plano Nacional de Combate à Resistência aos Antimicrobianos 2019-2023- âmbito do conceito Uma Só Saúde. Ministério da Saúde e Direção Geral de Saúde; [acedido em 2 de jan 2021]. <https://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/plano-nacional-de-combate-a-resistencia-aos-antimicrobianos-2019-2023-pdf.aspx>
- Dhillon RH, Clark J. 2012. ESBLs: A Clear and Present Danger? Crit Care Res Pract. 2012 :625170. doi: 10.1155/2012/62517
- Dorsch R, Teichmann-Knorrn S, Sjetne Lund H. 2019. Urinary tract infection and subclinical bacteriuria in cats: A clinical update. J Feline Med Surg. 21(11):1023-1038. doi: 10.1177/1098612X19880435
- Drawz SM, Bonomo RA. 2010. Three decades of beta-lactamase inhibitors. Clin Microbiol Rev.

23(1):160-201. doi: 10.1128/CMR.00037-09

- Drees M, Pineles L, Harris AD, Morgan DJ. 2014. Variation in definitions and isolation procedures for multidrug-resistant Gram-negative bacteria: a survey of the Society for Healthcare Epidemiology of America Research Network. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 35(4):362-366. doi: 10.1086/675600
- Epstein M, Kuehn NF, Landsberg G, Lascelles BD, Marks SL, Schaedler JM, Tuzio H. 2005. AAHA senior care guidelines for dogs and cats. *J Am Anim Hosp Assoc.* 41(2):81-91. doi: 10.5326/0410081
- Escher M, Vanni M, Intorre L, Caprioli A, Tognetti R, Scavia G. 2011. Use of antimicrobials in companion animal practice: a retrospective study in a veterinary teaching hospital in Italy. *J Antimicrob Chemother.* 66(4):920-7. doi: 10.1093/jac/dkq543
- Espadale E, Pinchbeck G, Williams NJ, Timofte D, McIntyre KM, Schmidt VM. 2018. Are the Hands of Veterinary Staff a Reservoir for Antimicrobial-Resistant Bacteria? A Randomized Study to Evaluate Two Hand Hygiene Rubs in a Veterinary Hospital. *Microb Drug Resist.* 24(10):1607-1616. doi: 10.1089/mdr.2018.0183
- European Medicines Agency. 2013. Reflection paper on the risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. [acedido em 15 out 2020]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-risk-antimicrobial-resistance-transfer-companion-animals_en.pdf
- European Medicines Agency. 2014. Answers to the request for scientific advice on the impact on public health and animal health of the use of antibiotics in animals. Answer to the second request from the EC (ranking of antibiotics) Answer to the third request from the EC (new antibiotics). [acedido em 10 out 2020]. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2014/07/WC500170253.pdf
- European Medicines Agency. 2017. Reflection paper on off-label use of antimicrobials in veterinary medicine in the European Union CVMP Recommendations for action. [acedido em 8 nov 2020]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-label-use-antimicrobials-veterinary-medicine-european-union-first-version_en.pdf
- European Medicines Agency. 2018a. Reflection paper on use of aminoglycosides in animals in the European Union: development of resistance and impact on human and animal health. [acedido em 1 nov 2020]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-use-aminoglycosides-animals-european-union-development-resistance-impact-human_en.pdf
- European Medicines Agency. 2018b. Reflection paper on use of aminoglycosides in animals in the European Union : development of resistance and impact on human and animal health. [acedido em 1 nov 2020]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-use-aminoglycosides-animals-european-union-development-resistance-impact-human_en.pdf
- European Medicines Agency. 2019. Answer to the request from the European Commission for updating the scientific advice on the impact on public health and animal health of the use of antibiotics in animals - Categorisation of antimicrobials. [acedido em 8 nov 2020]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/answer-request-european-commission-updating-scientific-advice-impact-public-health-animal-health-use_en.pdf
- FEDIAF. (2019). Facts & Figures 2019 European Overview. The European Petfood Industry. [acedido em 10 jan 2020]. https://fediaf.org/images/FEDIAF_facts_and_figs_2019_cor-35-48.pdf

- Fernandes R, Amador P, Oliveira C, Prudêncio C. 2014 Molecular characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae in northern Portugal. *Scientific World Journal*. 2014:782897. doi: 10.1155/2014/782897
- French GL. 2005. Clinical impact and relevance of antibiotic resistance. *Adv Drug Deliv Rev*. 57(10):1514-1527. doi: 10.1016/j.addr.2005.04.005
- Gibson JS, Morton JM, Cobbold RN, Sidjabat HE, Filippich LJ, Trott DJ. 2008. Multidrug-resistant *E. coli* and enterobacter extraintestinal infection in 37 dogs. *J Vet Intern Med*. 22(4):844-50. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.00124.x
- Greene CE, Boothe DM. 2012. Antibacterial Chemotherapy. In Craig E. Greene *Infections Diseases of the Dog and Cat* .4th ed. Elsevier. p. 283-191.
- Guardabassi L, Damborg P, Stamm I, Kopp PA, Broens EM, Toutain PL; ESCMID Study Group for Veterinary Microbiology. 2017. Diagnostic microbiology in veterinary dermatology: present and future. *Vet Dermatol*. 28(1):146-e30. doi: 10.1111/vde.12414
- Harbottle H, Thakur S, Zhao S, White DG. 2006. Genetics of antimicrobial resistance. *Anim Biotechnol*. 17(2):111-24. doi: 10.1080/10495390600957092
- Hartantyo SHP, Chau ML, Fillon L, Ariff AZBM, Kang JSL, Aung KT, Gutiérrez RA. 2018. Sick pets as potential reservoirs of antibiotic-resistant bacteria in Singapore. *Antimicrob Resist Infect Control*. 7(106). doi: 10.1186/s13756-018-0399-9
- Hernandez J, Bota D, Farbos M, Bernardin F, Ragetly G, Médaille C. 2014. Risk factors for urinary tract infection with multiple drug-resistant *Escherichia coli* in cats. *J Feline Med Surg*. 16(2):75-81. doi: 10.1177/1098612X13504407
- Hu Y, Gao GF, Zhu B. 2017. The antibiotic resistome: gene flow in environments, animals and human beings. *Front Med*. 11(2):161-168. doi: 10.1007/s11684-017-0531-x
- Jessen LR, Damborg PP, Spohr A, Sørensen TM, Langhorn R, Goericke-Pesch SK, Houser G, Willesen J, Schjærff M, Eriksen T et al. 2019. Antibiotic Use Guidelines for Companion Animal Practice (2nd ed.). The Danish Small Animal Veterinary Association, SvHKS [accedido em 3 jan 2021] https://www.ddd.dk/media/2175/assembled_final.pdf
- Johnstone T. 2020. A clinical approach to multidrug-resistant urinary tract infection and subclinical bacteriuria in dogs and cats. *N Z Vet J*. 68(2):69-83. doi: 10.1080/00480169.2019.1689196
- Joosten P, Ceccarelli D, Odent E, Sarrazin S, Graveland H, Van Gompel L, Battisti A, Caprioli A, Franco A, Wagenaar JA, Mevius D, Dewulf J. 2020. Antimicrobial Usage and Resistance in Companion Animals: A Cross-Sectional Study in Three European Countries. *Antibiotics (Basel)*. 9(87):1-16. doi: 10.3390/antibiotics9020087
- Kaeberlein M, Creevy KE, Promislow DE. 2016. The dog aging project: translational geroscience in companion animals. *Mamm Genome*. 27(7-8):279-88. doi: 10.1007/s00335-016-9638-7
- Kaspar U, von Lützu A, Schlattmann A, Roesler U, Köck R, Becker K. 2018. Zoonotic multidrug-resistant microorganisms among small companion animals in Germany. *PLoS One*. 13(12). doi: 10.1371/journal.pone.0208364
- Kjellman EE, Slettemeås JS, Small H, Sunde M. 2015. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from healthy dogs in Norway - occurrence, genotypes and comparison to clinical MRSP. *Microbiologyopen*. 4(6):857-866. doi: 10.1002/mbo3.258
- Laflamme DP. Nutrition for aging cats and dogs and the importance of body condition. 2005. *Vet Clin North America- Small Anim Pract*. 35(3):713-742. doi: 10.1016/j.cvsm.2004.12.011

- Lakshmi R, Nusrin KS, Georgy SA, Sreelakshmi KS. 2014. Role of Beta Lactamases in Antibiotic Resistance: a Review. *International Research Journal of Pharmacy*.5(2), 37–40. doi:10.7897/2230-8407.050207
- Lappin MR, Blondeau J, Boothe D, Breitschwerdt EB, Guardabassi L, Lloyd DH, Papich MG, Rankin SC, Sykes JE, Turnidge J, Weese JS. 2017. Antimicrobial use Guidelines for Treatment of Respiratory Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *J Vet Intern Med*. 31(2):279-294. doi: 10.1111/jvim.14627
- Lehner G, Linek M, Bond R, Lloyd DH, Prenger-Berninghoff E, Thom N, Straube I, Verheyen K, Loeffler A. 2014. Case-control risk factor study of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) infection in dogs and cats in Germany. *Vet Microbiol*. 168(1):154-160. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.10.023
- Lerminiaux NA, Cameron ADS. 2019. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Can J Microbiol*. 65(1):34-44. doi: 10.1139/cjm-2018-0275
- Lima LM, Silva BNMD, Barbosa G, Barreiro EJ. 2020. β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *Eur J Med Chem*. 208:112829. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112829
- Livermore DM, Woodford N. 2006. The beta-lactamase threat in Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter. *Trends Microbiol*. 14(9):413-420. doi: 10.1016/j.tim.2006.07.008
- Loncaric I, Misic D, Szostak MP, Künzel F, Schäfer-Somi S, Spargser J. 2020. Broad-Spectrum Cephalosporin-Resistant and/or Fluoroquinolone-Resistant *Enterobacterales* Associated with Canine and Feline Urogenital Infections. *Antibiotics (Basel)*. 387(9). doi: 10.3390/antibiotics9070387
- Lund HS, Skogtun G, Sørum H, Eggertsdóttir AV. 2015. Antimicrobial susceptibility in bacterial isolates from Norwegian cats with lower urinary tract disease. *J Feline Med Surg*. 17(6):507-15. doi: 10.1177/1098612X14550171
- Lupo A, Haenni M, Madec JY. 2018. Antimicrobial Resistance in *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas* spp. *Microbiol Spectr*. 6(3). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0007-2017
- Machado E, Coque TM, Cantón R, Sousa JC, Peixe L. 2013. Commensal Enterobacteriaceae as reservoirs of extended-spectrum beta-lactamases, integrons, and sul genes in Portugal. *Front Microbiol*. 4(80). doi: 10.3389/fmicb.2013.00080
- MacKinnon MC, Pearl DL, Carson CA, Parmley EJ, McEwen SA. 2018. Comparison of annual and regional variation in multidrug resistance using various classification metrics for generic *Escherichia coli* isolated from chicken abattoir surveillance samples in Canada. *Prev Vet Med*. 154:9-17. doi: 10.1016/j.prevetmed.2018.03.010
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, et al. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 18(3):268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
- Marchetti L, Buldain D, Gortari Castillo L, Buchamer A, Chirino-Trejo M, Mestorino N. 2021. Pet and Stray Dogs as Reservoirs of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli*. *Int J Microbiol*. [accepted]. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7850822/>

- Marques C, Gama LT, Belas A, Bergström K, Beurlet S, Briend-Marchal A, Broens EM, Costa M, Criel D, Damborg P, et al. 2016. European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections. *BMC Veterinary Research*. 12(213). doi: 10.1186/s12917-016-0840-3
- Mateus A, Brodbelt DC, Barber N, Stärk KD. 2011. Antimicrobial usage in dogs and cats in first opinion veterinary practices in the UK. *J Small Anim Pract*. 52(10):515-521. doi: 10.1111/j.1748-5827.2011.01098.x
- Mayer-Roenne B, Goldstein RE, Erb HN. 2007. Urinary tract infections in cats with hyperthyroidism, diabetes mellitus and chronic kidney disease. *J Feline Med Surg*. 9(2):124-132. doi: 10.1016/j.jfms.2006.09.004
- McLeod M, Ahmad R, Shebl NA, Micallef C, Sim F, Holmes A. 2019. A whole-health-economy approach to antimicrobial stewardship: Analysis of current models and future direction. *PLoS Med*. 16(3) doi: 10.1371/journal.pmed.1002774
- Medina E, Pieper DH. 2016. Tackling Threats and Future Problems of Multidrug-Resistant Bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol*. 398:3-33. doi: 10.1007/82_2016_492
- Miller WR, Munita JM, Arias CA. 2014. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 12(10):1221-1236. doi: 10.1586/14787210.2014.956092
- Moodley A, Damborg P, Nielsen SS. 2014. Antimicrobial resistance in methicillin susceptible and methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* of canine origin: literature review from 1980 to 2013. *Vet Microbiol*. 171(3-4):337-41. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.02.008
- Morgan M. 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? *J Antimicrob Chemother*. 62(6):1181-1187. doi: 10.1093/jac/dkn405
- Müller J, Voss A, Köck R, Sinha B, Rossen JW, Kaase M, Mielke M, Daniels-Haardt I, Jurke A, Hendrix R, et al. 2015. Cross-border comparison of the Dutch and German guidelines on multidrug-resistant Gram-negative microorganisms. *Antimicrob Resist Infect Control*. 4(7). doi: 10.1186/s13756-015-0047-6
- Murphy CP, Reid-Smith RJ, Boerlin P, Weese JS, Prescott JF, Janecko N, McEwen SA. 2012. Out-patient antimicrobial drug use in dogs and cats for new disease events from community companion animal practices in Ontario. *Can Vet J*. 53(3):291-298.
- Nienhoff U, Kadlec K, Chaberny IF, Verspohl J, Gerlach GF, Kreienbrock L, Schwarz S, Simon D, Nolte I. 2011a. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among dogs admitted to a small animal hospital. *Vet Microbiol*. 150(1-2):191-197. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.12.018
- Nienhoff U, Kadlec K, Chaberny IF, Verspohl J, Gerlach GF, Schwarz S, Kreienbrock L, Nolte I, Simon D. 2011b. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among cats admitted to a veterinary teaching hospital. *Vet Microbiol*. 153(3-4):414-416. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.05.045
- Nigg A, Brilhante M, Dazio V, Clément M, Collaud A, Gobeli Brawand S, Willi B, Endimiani A, Schuller S, Perreten V. 2019. Shedding of OXA-181 carbapenemase-producing *Escherichia coli* from companion animals after hospitalisation in Switzerland: an outbreak in 2018. *Euro Surveill*. 24(39) doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.39.1900071
- Norris JM, Zhuo A, Govendir M, Rowbotham SJ, Labbate M, Degeling C, Gilbert GL, Dominey-Howes D, Ward MP. 2019. Factors influencing the behaviour and perceptions of Australian veterinarians towards antibiotic use and antimicrobial resistance. *PLoS One*. 14(10). doi: 10.1371/journal.pone.0223534

- OIE-World Organization for Animal Health. 2018. OIE List of antimicrobial agents of veterinary importance. [acedido em 15 jan 2021]. <https://www.oie.int/app/uploads/2021/03/a-oie-list-antimicrobials-may2018.pdf>
- OHEJP-One Health European Joint Programme. 2020. [acedido em 6 jan 2021]. <https://onehealthejp.eu/structure/>
- Overgaauw PAM, Vinke CM, Hagen MAEV, Lipman LJA. 2020. A One Health Perspective on the Human-Companion Animal Relationship with Emphasis on Zoonotic Aspects. *Int J Environ Res Public Health*. 17(11). doi: 10.3390/ijerph17113789
- Pacios O, Blasco L, Bleriot I, Fernandez-Garcia L, González Bardanca M, Ambroa A, López M, Bou G, Tomás M. 2020. Strategies to Combat Multidrug-Resistant and Persistent Infectious Diseases. *Antibiotics (Basel)*. 9(2). doi: 10.3390/antibiotics9020065
- Perreten V, Kadlec K, Schwarz S, Grönlund Andersson U, Finn M, Greko C, Moodley A, Kania SA, Frank LA, Bemis DA, et al. 2010. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J Antimicrob Chemother*. 65(6):1145-1154. doi: 10.1093/jac/dkq078
- Pleydell EJ, Souphavan K, Hill KE, French NP, Prattley DJ. 2012. Descriptive epidemiological study of the use of antimicrobial drugs by companion animal veterinarians in New Zealand. *N Z Vet J*. 60(2):115-122. doi: 10.1080/00480169.2011.643733
- Pomba C, Couto N, Moodley A. 2010. Treatment of a lower urinary tract infection in a cat caused by a multi-drug methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* and *Enterococcus faecalis*. *J Feline Med Surg*. 12(10):802-806. doi: 10.1016/j.jfms.2010.04.006
- Pomba C, Rantala M, Greko C, Baptiste KE, Catry B, van Duijkeren E, Mateus A, Moreno MA, Pyörälä S, Ružauskas M, Sanders P, Teale C, Threlfall EJ, Kunsagi Z, Torren-Edo J, Jukes H, Törneke K. 2017. Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. *J Antimicrob Chemother*. 72(4):957-968. doi: 10.1093/jac/dkw481
- Prescott JF, Hanna WJ, Reid-Smith R, Drost K. 2002. Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *Can Vet J*. [acedido em 26 Jan 2021] 43(2):107-116. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11842592/>
- Robinson TP, Bu DP, Carrique-Mas J, Fèvre EM, Gilbert M, Grace D, Hay SI, Jiwakanon J, Kakkar M, Kariuki S, Laxminarayan R, Lubroth J, Magnusson U, Thi Ngoc P, Van Boeckel TP, Woolhouse ME. 2016. Antibiotic resistance is the quintessential One Health issue. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 110(7):377-380. doi: 10.1093/trstmh/trw048
- Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, Pérez-Cano R, Pascual A. 2004. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *J Clin Microbiol*. 42(3):1089-1094. doi: 10.1128/JCM.42.3.1089-1094.2004
- Rozwandowicz M, Brouwer MSM, Fischer J, Wagenaar JA, Gonzalez-Zorn B, Guerra B, Mevius DJ, Hordijk J. 2018. Plasmids carrying antimicrobial resistance genes in *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother*. 73(5):1121-1137. doi: 10.1093/jac/dkx488
- Rubin JE, Pitout JD. 2014. Extended-spectrum β -lactamase, carbapenemase and AmpC producing *Enterobacteriaceae* in companion animals. *Vet Microbiol*. 170(1-2):10-8. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.01.017
- Ruscher C, Lübke-Becker A, Semmler T, Wleklinski CG, Paasch A, Soba A, Stamm I, Kopp P, Wieler LH, Walther B. 2010. Widespread rapid emergence of a distinct methicillin- and multidrug-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) genetic lineage in Europe. *Vet Microbiol*. 144(3-4):340-346. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.01.008

- Saputra S, Jordan D, Mitchell T, Wong HS, Abraham RJ, Kidsley A, Turnidge J, Trott DJ, Abraham S. 2017. Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolated from companion animals in Australia. *Vet Microbiol.* 211:43-50. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.09.014
- Schmidt JS, Kuster SP, Nigg A, Dazio V, Brilhante M, Rohrbach H, Bernasconi OJ, Büdel T, Campos-Madueno EI, Gobeli Brawand S, et al. 2020. Poor infection prevention and control standards are associated with environmental contamination with carbapenemase-producing Enterobacterales and other multidrug-resistant bacteria in Swiss companion animal clinics. *Antimicrob Resist Infect Control.* 9(93):1-13. doi: 10.1186/s13756-020-00742-5
- Schmiedel J, Falgenhauer L, Domann E, Bauerfeind R, Prenger-Berninghoff E, Imirzalioglu C, Chakraborty T. 2014. Multiresistant extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from humans, companion animals and horses in central Hesse, Germany. *BMC Microbiol.* 14(187). doi: 10.1186/1471-2180-14-187
- Schmitt K, Kuster SP, Zurfluh K, Jud RS, Sykes JE, Stephan R, Willi B. 2021. Transmission Chains of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae at the Companion Animal Veterinary Clinic-Household Interface. *Antibiotics (Basel).* 10(2):171. doi: 10.3390/antibiotics10020171
- Schmidt VM, Pinchbeck G, McIntyre KM, Nuttall T, McEwan N, Dawson S, Williams NJ. 2018. Routine antibiotic therapy in dogs increases the detection of antimicrobial-resistant faecal *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother.* 73(12):3305-3316. doi: 10.1093/jac/dky352
- Singleton DA, Sánchez-Vizcaíno F, Dawson S, Jones PH, Noble PJM, Pinchbeck GL, Williams NJ, Radford AD. 2017. Patterns of antimicrobial agent prescription in a sentinel population of canine and feline veterinary practices in the United Kingdom. *Vet J.* 224:18-24. doi: 10.1016/j.tvjl.2017.03.010
- Stull JW, Weese JS. 2015. Hospital-associated infections in small animal practice. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 45(2):217-233. doi: 10.1016/j.cvs.2014.11.009
- Suárez C, Gudíol F. 2009. Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* [Internet]. [accedido em 4 Jan 2021]. 27(2): 116–129. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.12.001>
- Suay-García B, Galán F, Rodríguez-Iglesias MA, Pérez-Gracia MT. 2019. Detection and Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamases-Producing *Escherichia coli* in Animals. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 19(2):115-120. doi: 10.1089/vbz.2018.2333
- Sweeney MT, Lubbers BV, Schwarz S, Watts JL. 2018. Applying definitions for multidrug resistance, extensive drug resistance and pandrug resistance to clinically significant livestock and companion animal bacterial pathogens. *J Antimicrob Chemother.* 73(6):1460-1463. doi: 10.1093/jac/dky043
- Takashima GK, Day MJ. 2014. Setting the One Health agenda and the human-companion animal bond. *Int J Environ Res Public Health.* 11(11):11110-20. doi: 10.3390/ijerph111111110
- Tenover FC. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Infect Control.* [accedido em 10 Jan 2021]. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.219>
- Thompson MF, Litster AL, Platell JL, Trott DJ. 2011. Canine bacterial urinary tract infections: new developments in old pathogens. *Vet J.* 190(1):22-7. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.11.013
- Timofte D, Broens EM, Guardabassi L, Pomba C, Allerton F, Ikononopoulos J, Overesch G, Damborg P; European Network for Optimization of Veterinary Antimicrobial Treatment (ENOVAT), ESCMID Study Group for Veterinary Microbiology (ESGVM), European

- College of Veterinary Microbiology (ECVM), et al. 2020. Driving Laboratory Standardization of Bacterial Culture and Antimicrobial Susceptibility Testing in Veterinary Clinical Microbiology in Europe and Beyond. *J Clin Microbiol.* 59(6). doi: 10.1128/JCM.02572-20
- Torres C, Alonso CA, Ruiz-Ripa L, León-Sampedro R, Del Campo R, Coque TM. 2018. Antimicrobial Resistance in *Enterococcus* spp. of animal origin. *Microbiol Spectr.* 6(4). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0032-2018
- Tuerena I, Williams NJ, Nuttall T, Pinchbeck G. 2016. Antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in hospitalised companion animals and their hospital environment. *J Small Anim Pract.* 57(7):339-47. doi: 10.1111/jsap.12525
- Valiakos G, Pavlidou E, Zafeiridis C, Tsokana CN, Del Rio Vilas VJ. 2020. Antimicrobial practices among small animal veterinarians in Greece: a survey. *One Health Outlook.* 2(7). doi: 10.1186/s42522-020-00013-8
- Van Cleven A, Sarrazin S, de Rooster H, Paepe D, Van der Meeren S, Dewulf J. 2018. Antimicrobial prescribing behaviour in dogs and cats by Belgian veterinarians. *Vet Rec.* 182(11) doi: 10.1136/vr.104316
- Walther B, Hermes J, Cuny C, Wieler LH, Vincze S, Abou Elnaga Y, Stamm I, Kopp PA, Kohn B, Witte W, et al. 2012. Sharing more than friendship--nasal colonization with coagulase-positive staphylococci (CPS) and co-habitation aspects of dogs and their owners. *PLoS One.* 7(4) doi: 10.1371/journal.pone.0035197
- Wayne A, McCarthy R, Lindenmayer J. 2011. Therapeutic antibiotic use patterns in dogs: observations from a veterinary teaching hospital. *J Small Anim Pract.* 52(6):310-318. doi: 10.1111/j.1748-5827.2011.01072.x
- WSAVA. 2011. One Health Initiative. *Eur. J. Companion Anim. Pract.* 21(11).
- Weese JS, van Duijkeren E. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet Microbiol.* 140(3-4):418-429. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.01.039
- Weese JS, Giguère S, Guardabassi L, Morley PS, Papich M, Ricciuto DR, Sykes JE. 2015. ACVIM consensus statement on therapeutic antimicrobial use in animals and antimicrobial resistance. *J Vet Intern Med.* 29(2):487-98. doi: 10.1111/jvim.12562
- Weese JS, Faires MC, Frank LA, Reynolds LM, Battisti A. 2012. Factors associated with methicillin-resistant versus methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* infection in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 240(12):1450-1455. doi: 10.2460/javma.240.12.1450
- Wenzel RP. 2004. The antibiotic pipeline--challenges, costs, and values. *N Engl J Med.* 351(6):523-326. doi: 10.1056/NEJMp048093
- White DG, Acar J, Anthony F, Franklin A, Gupta R, Nicholls T, Tamura Y, Thompson S, Threlfall EJ, Vose D, et al. 2001. Antimicrobial resistance: standardisation and harmonisation of laboratory methodologies for the detection and quantification of antimicrobial resistance. *Rev Sci Tech.* 20(3):849-58. doi: 10.20506/rst.20.3.1316
- Wiedenbeck J, Cohan FM. 2011. Origins of bacterial diversity through horizontal genetic transfer and adaptation to new ecological niches. *FEMS Microbiol Rev.* 35(5):957-76. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00292.x
- Wieler LH, Ewers C, Guenther S, Walther B, Lübke-Becker A. 2011. Methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in companion animals: nosocomial infections as one reason for the

- rising prevalence of these potential zoonotic pathogens in clinical samples. *Int J Med Microbiol.* 301(8):635-641. doi: 10.1016/j.ijmm.2011.09.009
- Windahl U, Gren J, Holst BS, Börjesson S. 2016. Colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in multi-dog households: A longitudinal study using whole genome sequencing. *Vet Microbiol.* 189:8-14. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.04.010
- Wolfensberger A, Kuster SP, Marchesi M, Zbinden R, Hombach M. 2019. The effect of varying multidrug-resistance (MDR) definitions on rates of MDR gram-negative rods. *Antimicrob Resist Infect Control.* 8(193). doi: 10.1186/s13756-019-0614-3
- Woodford N, Ellington MJ. 2007. The emergence of antibiotic resistance by mutation. *Clin Microbiol Infect.* 13(1):5-18. doi: 10.1111/j.1469-0691.2006.01492.x
- World Health Organization. 2018. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine (6th ed.). [acedido em 20 out. 2020] <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/312266/9789241515528-eng.pdf?ua=1>
- World Health Organization. 2017. Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics. [acedido em 20 nov. 2020]. https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf
- World Veterinary Association. 2018. Global Repository of Available Guidelines for Responsible Use of Antimicrobials in Animal Health. World Veterinary Association. [acedido em 15 dezembro 2020]. https://www.worldvet.org/uploads/news/docs/list_of_available_guidelines_on_amu_-aug2019.pdf
- Zogg AL, Simmen S, Zurfluh K, Stephan R, Schmitt SN, Nüesch-Inderbilen M. 2018. High Prevalence of Extended-Spectrum β -Lactamase Producing Enterobacteriaceae Among Clinical Isolates From Cats and Dogs Admitted to a Veterinary Hospital in Switzerland. *Front Vet Sci.* 5(62). doi: 10.3389/fvets.2018.00062